Aus dem Institut für Physiologische Chemie II
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. W. Staib

KONZENTRATIONSABHÄNGIGE REGULATION DES LACTATSTOFFWECHSELS DER SKELETTMUSKULATUR

(Untersuchungen am isoliert perfundierten Hinterkörper der Ratte unter Ruhebedingungen und nach Arbeitsbelastung)

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Peter Thomaßen

1983

UNIV.
LONDON
LIBR.

Aus dem Institut für Physiologische Chemie II
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. W. Staib

KONZENTRATIONSABHÄNGIGE REGULATION DES LACTATSTOFFWECHSELS DER SKELETTMUSKULATUR

(Untersuchungen am isoliert perfundierten Hinterkörper der Ratte unter Ruhebedingungen und nach Arbeitsbelastung)

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Peter Thomaßen

1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez. Prof. Dr. Brüster

Referent:
gez.: Prof. Dr. Staib

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Zimmermann

Inhalt

I. Einleitung

II. Versuchseinteilung

III. Material und Methoden

1.) Versuchstiere und ihre Behandlung

2.) Reagenzien

3.) Perfusionsmedium

4.) Präparation des isolierten Hinterkörpers

5.) Perfusionssystem und Perfusionsablauf

6.) Methoden der Analyse

7.) Auswertung

IV. Ergebnisse

1.) Kontrollparameter der Perfusionen

2.) Versuchsgruppe I: Stoffwechselparameter der Skelettmuskulatur unter exogener Lactatbelastung

a) Glucose
b) Lactat
c) Pyruvat
d) Alanin
e) Lactat und Pyruvat im Muskelgewebe
f) Lactat/Pyruvat-Quotienten
g) Glykogen

3.) Versuchsgruppe II: Muskelstoffwechsel untrainierter und trainierter Ratten im Stadium nach erschöpfender Muskelarbeit

a) Glucose
b) Lactat
c) Pyruvat
d) Alanin
e) Lactat und Pyruvat im Muskelgewebe
f) Lactat/Pyruvat-Quotienten
g) Glykogen

V. Diskussion

1.) Versuchsgruppe I

2.) Versuchsgruppe II

3.) Versuchsgruppe III

VI. Zusammenfassung und abschließende Wertung

VII. Danksagung

VIII. Literatur

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543909_0043

I. Einleitung

Schon seit langem ist die Bildung von Lactat als Charakteristikum muskulärer Aktivität bekannt (1-4), ohne daß bis heute jedoch die Gesetzmäßigkeiten, denen der Lactatstoffwechsel des Muskels gehorcht, als geklärt bezeichnet werden könnten. Zahlreiche Untersuchungen wurden vor allem angestellt über den zeitlichen Verlauf der Lactatbildung durch den ruhenden und den arbeitenden Muskel (5-15, 18, 22, 28, 29, 32, 41, 70), und über ihre Abhängigkeit von unterschiedlich intensiven Arbeitsbelastungen (13, 14, 17, 19, 20, 21, 41). Verschiedene Autoren berichteten über verminderte Lactatbildung bei intermittierender (23) oder auf vorherige erschöpfende Belastung folgender erneuter Muskelarbeit (18, 41, 66). Auch wurde beobachtet, daß eine Lactatakkumulation im Muskel und eine Erhöhung des Blutspiegels erst oberhalb einer Belastung von 60 - 80 % der maximal möglichen Sauerstoffaufnahme eintrat (17, 68). Bei Berücksichtigung der eingeschränkten Vergleichbarkeit der Studien, die sich in Bezug auf Versuchsobjekte und Ausgangsbedingungen erheblich unterschieden, ergaben sich dennoch als weitgehend gemeinsame Befunde ein Anstieg der muskulären Lactatproduktion mit steigender Belastung und ein charakteristischer Verlauf mit zu Beginn hohen Produktionsraten und darauffolgendem langsamen Abfall. Dabei fiel das Maximum der Blutlactatspiegel je nach Versuchsanordnung teils in die Arbeitsphase (12, 18, 22, 29, 70), teils in die Erholungsphase (11, 13, 14, 23).

Besonderes Interesse richtet sich seit geraumer Zeit auf die Stoffwechselwege des Lactats im Organismus und die Rolle der Muskulatur selbst bei diesen Vorgängen. Bekannt ist die Bedeutung des Lactats im sogenannten "Cori-Zyklus" (Glucose-Lactat-Glucose-Zyklus), in den es als wichtiger Präkursor der hepatischen und renalen Gluconeogenese eingeht (33, 80-82, 86, 87), vor allem im Hungerzustand nimmt es dadurch für die Glucosehomöostase einen wichtigen Stellenwert ein. Neben diesem an gluconeogenetische Organe gebundenen Stoffwechselzyklus wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen Befunde dargestellt, die auch für eine Lactatutilisation durch die Skelettmuskulatur sprechen. So wurde am menschlichen Muskel in vivo festgestellt, daß bei submaximaler Arbeit eine, vom Trainingszustand abhängige, Netto-Lactataufnahme sowohl der arbeitenden (13,14) als auch der an der Arbeit nicht beteiligten Muskeln stattfindet (67,71). Die Erhöhung

des Blutlactatspiegels nach erschöpfender Arbeit ist schneller reversibel, wenn in der Erholungsphase submaximale Arbeit geleistet wurde (66, 68). Bei Versuchen mit tierischen Muskelpräparationen zeigte sich unter supramaximaler Stimulation eine oft unerwartete Lactataufnahme bzw. -reutilisation (12,26,27,29). Beweisend für den unter Arbeit stattfindenen Austausch von Lactat zwischen Blut und Muskelgewebe in beiden Richtungen sowie für die Möglichkeit seines oxidativen Abbaus oder der Einschleusung in andere Stoffwechselwege im Muskel waren Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Lactat (22,24).

Die Fragen nach den Ursachen der muskulären Lactatbildung wird nicht einheitlich beantwortet. Eine Gruppe von Autoren (17,29,3o) sieht eine lokale Hypoxie und eine nur beschränkte Diffusionskapazität der Zellmembran für Lactationen als Ursache der vor allem intrazellulär hohen Lactatspiegel zu Beginn muskulärer Aktivität an; andere bestreiten diese Mechanismen (28,69) und halten eine relative "Insuffizienz" der Pyruvatdehydrogenasereaktion bei hoher glykolytischer Aktivität (13,14,23) und gesteigerter Oxidation freier Fettsäuren (FFA) (25,69) für auslösende Faktoren. Ein weiterer Mechanismus könnte die begrenzte Transportkapazität für Wasserstoffionen im Malat-Aspartat-Zyklus sein. Tatsächlich zeigten Untersuchungen an trainierten Muskeln einen Anstieg der Pyruvat-Oxidationskapazität und von Enzymaktivitäten in Citratzyklus und Atmungskette, die begleitet sind von einer Vermehrung und Vergrößerung der Mitochondrien (74-77). Auch die Enzymaktivitäten des Malat-Aspartat-Zyklus sind im trainierten Rattenmuskel gesteigert. Die Mitochondriendichte des Muskels scheint dabei im umgekehrten Verhältnis zur Neigung, bei Belastung Lactat zu bilden, zu stehen (89). Außerdem wurde am trainierten Muskel eine Verminderung der Gesamtaktivität der Lactatdehydrogenase (LDH) mit leichterer Pyruvat-Hemmbarkeit durch verändertes Isoenzymmuster festgestellt (63,64). Zur Erforschung von Veränderungen der Pyruvatdehydrogenaseaktivität in verschiedenen Geweben unter dem Einfluß unterschiedlicher Stoffwechsellagen wurden in jüngster Vergangenheit viele Schritte unternommen, wobei die Ergebnisse von großer Bedeutung auch für die Aufklärung des Lactatstoffwechsels der Skelettmuskulatur sind.

In zunehmendem Maße hat sich gezeigt, daß die Skelettmuskulatur, neben ihrer Bedeutung als Lactatquelle für den Cori-Zyklus, auch für

die Metabilisierung von Lactat und die Aufrechterhaltung einer "Lactathomöostase" im Blut von Wichtigkeit zu sein scheint. Die schon erwähnte Vielfalt der Versuchsanordnungen läßt jedoch wegen der nur bedingten Vergleichbarkeit mit invivo-Verhältnissen nur begrenzte Aussagen zu. Der isoliert perfundierte Hinterkörper der Ratte als invitro-Modell hat als physiologisch intakte Organeinheit mit hohem Muskelanteil große Ähnlichkeit mit den Verhältnissen in vivo (9o,91). Durch die zugleich relativ leichte Handhabung hat die Versuchsanordnung zur Erforschung des Muskelstoffwechsels eine große Bedeutung erlangt (32-38). Es lag daher nahe, die an diesem Modell bisher gewonnenen Daten (39,92,93) im Hinblick auf den Lactatmetabolismus zu ergänzen. Damit wurden die Untersuchungen des Instituts hinsichtlich der Regulation des Muskelstoffwechsels unter verschiedenen metabolischen Bedingungen und durch modifizierende Hormonwirkungen fortgeführt (37,92,93). Ziel war es, die Bedeutung der Skelettmuskulatur für die Lactathomöostase des Organismus durch Stoffwechselumstellung von Produktion auf Utilisation in hyperlactatämischen Zuständen weiter abzuklären und Interaktionen mit anderen Stoffwechselwegen der Muskulatur aufzuzeigen. Dabei wurden die Einflüsse muskulärer Erschöpfung im untrainierten und trainierten Zustand auf diese "autoregulativen" Momente zusätzlich berücksichtigt.

II. VERSUCHSEINTEILUNG

Entsprechend der Themenstellung wurden zwei Versuchsgruppen gebildet:

Die erste Versuchsgruppe (I) sollte Daten liefern über autoregulative Aspekte des Lactatstoffwechsels ruhender Skelettmuskulatur in Abhängigkeit von verschieden stark erhöhten Blutlactatspiegeln. Neben einer Kontrollreihe ohne Lactatzusatz, bei der mit einer durch Erythrocytenglykolyse bedingten initialen Lactatkonzentration von 0,7 bis 1,5 mMol/l zu rechnen war, wurden zwei Versuchsreihen mit um 3,0 mMol/l bzw. 6,0 mMol/l künstlich erhöhten Lactatspiegeln im Perfusionsmedium durchgeführt.

Eine zweite Versuchsgruppe (II) hatte zum Ziel, die Veränderungen im Lactatstoffwechsel der Muskulatur nach erschöpfender Belastung zu untersuchen. Ferner sollte der Einfluß von voraufgegangenem Langzeittraining auf diese Veränderungen geprüft werden. Es wurde je eine Reihe von Perfusionen im Zustand nach muskulärer Erschöpfung ohne und mit Zusatz von 6 mMol/l Lactat durchgeführt. Bei einer dritten Versuchsreihe wurden die Hinterkörper von Ratten, die ein Ausdauertraining absolviert hatten, nach Erschöpfung ebenfalls unter Lactatbelastung (6 mMol/l) perfundiert.

Abb. 1: Einteilung der Versuche

Gruppe	Reihe	n	Vorbereitung der Tiere	Versuchsablauf	
I	A	13	Nahrungsentzug 24 Stunden vor Perfusionsbeginn, Trinkwasser ad libitum	Perfusion mit standardisiertem Medium	
	B	5		Zusatz von 0,3 mMol L(+)-Lactat zu 100 ml Medium	
	C	6		Zusatz von 0,6 mMol L(+)-Lactat zu 100 ml Medium	
II	D	5	Nahrungsentzug 24 Stunden vor Perfusionsbeginn, Trinkwasser nach 6-wöchigem Lauftraining ad libitum	Lauf bis zur Erschöpfung unmittelbar vor Versuchsbeginn, (ca. 20'), intraoperative Muskelstimulation über die Nn. ischiadici (Impuls: 2V,5Hz,1ms) über ca. 25'	a) Perfusion mit stadardisiertem Medium
	E	6			b) Zusatz von 0,6 mMol L(+)-Lactat zu 100 ml Medium
	F	5			

III. MATERIAL UND METHODEN

1.) Versuchstiere und ihre Behandlung

Für die Versuche wurden ausschließlich männliche Albinoratten verwandt (Wistar-Stamm der Versuchstierabteilung der Univeristät Düsseldorf). Das Körpergewicht der Tiere lag zwischen 180 und 230 g. Gefüttert wurde bis 24 Stunden vor Versuchsbeginn mit der Zuchtdiät ALTROMIN 1314. Das Trinkwasser wurde bis zum Versuchsbeginn nicht entzogen.

Die Untersuchung am trainierten Muskel machte die Durchführung eines Ausdauer-Trainingsprogramms erforderlich. Dieses bestand in einem zweimaligen täglichen Lauf über jeweils eine Stunde mit einem Fließband gegen eine Neigung von 8°. Das Programm wurde durchgeführt an fünf Tagen pro Woche über die Dauer von insgesamt sehs Wochen. Die Geschwindigkeit des Laufbandes wurde allmählich von 5 - 15m/min in der ersten Woche über 20 m/min in der zweiten und dritten, 25 m/min in der vierten und fünften auf schließlich 30 m/min in der sechsten Trainingswoche gesteigert. Die Perfusionsversuche wurden unmittelbar nach Beendigung des Trainings an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Da die Tiere zu Beginn des Lauftrainings nur zwischen 100 und 120 g gewogen hatten, wich ihr Gewicht zum Zeitpunkt der Versuche nicht wesentlich von dem der übrigen Versuchstiere ab.

Unmittelbar vor allen Perfusionsversuchen der zweiten Versuchsgruppe liefen die Ratten auf dem Band bei steigender Geschwindigkeit bis zur völligen Erschöpfung. Dieser Zustand war bei einer maximalen Bandgeschwindigkeit von 30 m/min bei den untrainierten Tieren nach etwa 5 bis 10 min., bei den Tieren im Trainingszustand nach 15 - 20 min erreicht. Zusätzlich wurden während der gesamten Präparation beide Nn. ischiadici elektrostimuliert; die Pfoten waren dabei mit je einem 12 g-Gewicht in Dorsalflexion belastet.

2.) Pharmaka

a) Hexobarbital (EVIPAN^{R}-Na, Bayer AG, Leverkusen)
b) Heparin (LIQUEMIN^{R}, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach)
c) Betamethason (9a-Fluor, 16ß-Methyl-Prednisolon-Dinatriumsalz, CELESTAN^{R}, Byk Essex, München)

3.) Perfusionsmedium

Das halbsynthetische, standardisierte Medium, mit dem die Hinterkörperpräparate perfundiert wurden, ließ sich je nach den verschiedenen Erfordernissen der Versuchsanordnungen variieren. Es wurde in seiner Grundzusammensetzung entsprechend dem folgenden Schema hergestellt (Abb. 2).

Abb. 2: Zusammensetzung des standardisierten Perfusionsmediums

BESTANDTEILE	KONZENTRATIONEN	PRÄPARATE UND VORBEREITUNGSART
Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer pH 7,38 (KRB - Puffer)	mVal/l K^{+} 5,94 Na^{+} 143,52 Ca^{++} 5,08 Mg^{++} 2,10 Cl^{-} 130,70 $H_2PO_4^{-}$ 1,19 HCO_3^{-} 24,76	15-minütige Begasung mit Carbogen (95 % O_2 , 5 % CO_2)
Rindererythrocyten als Hämoglobinträger	10 g / 100 ml Hb Hämatokrit 28 %	1-2 Tage alte Rindererythrocyten: zweimal mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung, zweimal mit KRB-Puffer gewaschen
Rinderalbumin	4 g / 100 ml	Cohn - Fraktion V - Pentex / Miles: in KRB -Puffer gelöst, zweimal 24 Std. gegen KRB -Puffer dialysiert
Heparin	5000 USPE / 100 ml	LIQUEMIN 5000 HOFFMANN-LA ROCHE
D - (+) - Glucose	11 mM	a - D - Glucose p.A. SERVA 22700
Pyruvat - Na	0,15 mM	MERCK 6619
L - (+) -Lactat	0,7 - 1,5 mM	aus den Erythrocyten

Der Pyruvatgehalt des Standardmediums von 0,15 mMol/l war erforderlich, um bei Berücksichtigung der Lactatbildung aus der Erythrocytenglykolyse einen normalen Stoffwechselbedingungen weitgehend entsprechenden Lactat/Pyruvat-Quotienten von etwa 10 zu erreichen. Antibiotika waren im Standardmedium wegen der kurzen Perfusionsdauer von einer Stunde nicht enthalten.
In das Rezirkulationssystem wurden vor Beginn der Tierpräparation 170 ml Perfusionsmedium eingebracht. Der pH-Wert des Mediums, der durchschnittlich etwa 7,1 bis 7,15 betrug, wurde bis zum Perfusions-

beginn durch $NaHCO_3$-Zugabe in den physiologischen Bereich von 7,36 bis 7,44 gebracht. Gegen Ende der Hinterkörperpräparation wurden dann 70 ml Medium aus dem Perfusionssystem in ein besonderes Gefäß zur Vorspülung des Präparates abgefüllt.

In den Versuchen mit erhöhtem Lactatspiegel wurde dem Perfusionsmedium vor dem Einfüllen in das Rezirkulationssystem L(+)-Lactat (Fa. Carl Roth, Karlsruhe, No. 1757590) in einer Konzentration von 3,0 mMol/l bzw. 6,0 mMol/l zugefügt.

4.) Präparation des isolierten Hinterkörpers

Nach Narkotisierung mit 15 mg EVIPAN^{R}-Na/100 g Körpergewicht, und Heparinisierung mit 0,2 ml LIQUEMIN^{R} (= 1000 I.E. Heparin), beide Substanzen intraperitoneal injiziert, erfolgte die Operation in Anlehnung an die Methodik, die von mehreren Autoren in früheren Arbeiten dokumentiert wurde (32, 36, 37, 92).
Nach Inzision der Haut in der Mittellinie des Abdomens wurde die Bauchwand von der Symphyse bis zum Processus xiphoideus des Sternum durchtrennt. Abbinden der Bauchdecken mit den dazugehörigen Gefäßen wurde durch Umstechung von Bauchmuskeln und Haut in Höhe der Nieren erreicht. Der nächste Schritt war die Unterbindung und Durchtrennung von Ureteren und Vasa testicularia. Nach Mobilisierung des Testes aus dem Scrotum schloß sich die Eviszeration des kleinen Beckens mit Ligatur und Entfernung von Hoden, Nebenhoden, Samenblasen, Harnblase und Prostata an. Auf die Abbindung und Durchtrennung der Art. mesenterica inf. folgte nach doppelter Unterbindung die distale Durchtrennung des Colon descendens. Die Eviszeration konnte nach Ligatur und Durchschneidung von Truncus coeliacus, Art. mesenterica sup., Oesophagus, Vena portae und Ductus choledochus mit der Entfernung des gesamten Magen-Darm-Pakets und der Milz abgeschlossen werden. Die Vasa epigastrica inferiores und iliolumbales wurden abgebunden und alles sichtbare Fettgewebe entfernt. Die Wundränder der Bauchdecken wurden zur Vermeidung von Sickerblutungen kauterisiert. Zwei lockere Ligaturen wurden unterhalb der Vasa renales um Aorta und Vena cava inf. gelegt. Schließlich wurde nun das Tier durch Abheben der vorderen Thoraxwand getötet, die jeweils proximale Ligatur um Aorta und Vena cava zugezogen, die Aorta mit einem kleinen Schnitt eröffnet und mit einer BRAUNÜLE^{R} 0,5 (Fa. B. Braun, Melsungen), kanüliert. Anschluß an das Vorperfusionssystem führte zu praller Füllung der Vena cava, die sich nun leicht mit einer BRAUNÜLE^{R} 1,0 ebenfalls kanülieren ließ. Fixiert wurden beide Kanülen mit der vorher angelegten distalen Schlinge. Das zwischen Abbinden der Aorta und Kanülieren der Cava gelegene ischämische Intervall dauerte im allgemeinen nicht länger als zwei bis drei Minuten. Um etwaigen Verlusten von Perfusionsmedium an die obere Körperhälfte und möglichen Zumischungen aus diesem Gebiet

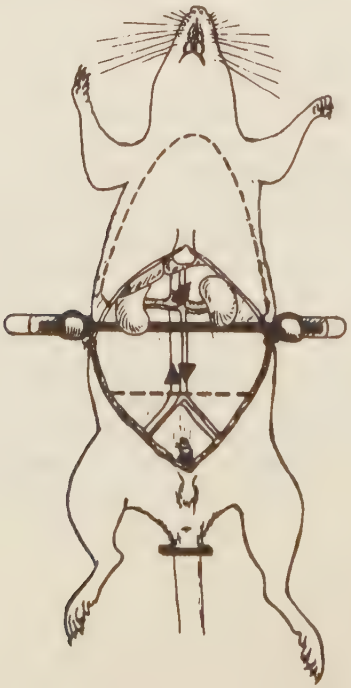
vorzubeugen, wurde der Rattenkörper mit einer Stahlstange in Höhe der unteren Nierenpole komprimiert. Der Schwanz wurde ebenfalls durch Abklemmen von der Zirkulation ausgeschlossen.

Nach Spülung des Präparates mit Perfusionsmedium ("Vorperfusion") wurde der isolierte Hinterkörper in das Rezirkulationssystem eingeschaltet (siehe Abb. 3).

Bei den Erschöpfungsversuchen der Gruppe II war der erste Schritt der Präparation die beidseitige Freilegung der Nn. ischiadici in einer Gewebenische etwas kaudal-distal der Oberschenkelköpfe und ihr Anschluß an Mikroelektroden aus Platindraht. Intraoperativ wurden dann bis zum Perfusionsbeginn durch supramaximale Stimulation der Nerven mit Rechteckimpulsen (2 Volt, 5 Hertz, Impulsdauer 1 Millisekunde) rhythmische Kontraktionen der Beinmuskeln erzeugt. Dabei war die Gewichtsbelastung der Pfoten wie oben beschrieben.
Die durchschnittliche Operationsdauer betrug etwa 25 - 30 Minuten.

Abb. 3

Das Modell des isolierten Hinterkörpers nach der Präparation:



Die Pfeildreiecke bezeichnen die Lage der Ein- und Ausflußkanülen in Aorta und Vena cava inferior

6.) Methoden der Analyse

Nach Entnahme der Proben aus dem Perfusionsmedium wurden die Enteiweißung und Extraktion für die Bestimmung von Glucose mit 0,33-normaler, von Pyruvat mit 1,0-normaler, von Lactat und Alanin mit 0,6 normaler Perchlorsäure durchgeführt. Aus dem Überstand erfolgte dann die Bestimmung von Glucose mit der Glucoseoxydase-Methode nach Werner und Mitarb. (114) (GOD-Perid, Testkombination 15756, Boehringer Mannheim GmbH), von Lactat mit LDH nach Gutmann und Wahlefeld (115), von Pyruvat ebenfalls mit LDH nach Czok und Lamprecht (116) (Testkombination 15973, Boehringer Mannheim GmbH) und von Alanin entsprechend einer Abwandlung (92) der Methode nach Williamson (109) mit L-Alanindehydrogenase (aus Bacillus subtilis, 150 E/ml, unverdünnt, Testkombination 15224, Boehringer Mannheim GmbH).
Für die Bestimmung von Glykogen, Lactat und Pyruvat im Muskelgewebe wurden beide Mm. gastrocnemii unmittelbar nach Perfusionsende im Frierstopverfahren konserviert. Eine Probe diente zur Bestimmung des Glykogengehaltes mittels der Anthronmethode nach Seifter u. Mitarb. (110). Die andere Muskelprobe wurde im tiefgefrorenen Zustand pulverisiert (Microdismembrator^{R}, B. Braun, Melsungen AG) und anschließend 45 min in eisgekühlter 0,6-normaler Perchlorsäure extrahiert. Im neutralisierten Überstand wurden dann mit den oben angegebenen Verfahren die Gehalte an Lactat und Pyruvat ermittelt.

7.) Auswertung

In den zu den Zeitpunkten 0', 20', 40', 60' während der Perfusionen entnommenen Proben wurden die Substratkonzentrationen im Medium bestimmt. Bei Berücksichtigung der Probenvolumina (im allgemeinen 4 ml) ließen sich dann die Substrataufnahmen bzw. -abgaben durch das Hinterkörperpräparat für die Intervalle zwischen den Probenentnahmen berechnen und zu Kumulativen addieren. Da nach Angaben in (32), die durch eigene Untersuchungen bestätigt wurden, die Muskulatur des Hinterkörperpräparates einer 180 g schweren Ratte 30 g ausmacht, wurden die Berechnungen unter Beachtung des tatsächlichen Körpergewichtes des jeweiligen Versuchstieres auf diesen Durchschnittswert bezogen. Der Eigenstoffwechsel des erythrocytenhaltigen Mediums wurde wegen seines relativ geringen Ausmaßes (92) und der kurzen Perfusionsdauer bei den Berechnungen nicht berücksichtigt.

5.) Perfusionssystem und Perfusionsablauf

Bei der vorliegenden Arbeit wurde eine Perfusionsapparatur verwandt, wie sie schon in früheren Publikationen des Instituts Erwähnung fand (37, 39, 92; Abb. 4).
Die gesamte Apparatur wird umgeben von einer Kammer, in der eine konstante Temperatur von 37° C herrscht. Das rezirkulierende Medium, welches ein Volumen von 100 ml besitzt, wird in einem Scheibenoxygenator mit angefeuchtetem Carbogen (95 % O_2, 5 % CO_2) äquilibriert. Nach dem Passieren eines Seidenfilters wird es von einer Rollenpumpe über eine pH- und pO_2-Durchflußelektrodenkette in ein Überlaufgefäß transportiert. Dieses Gefäß ist in einer Höhe angebracht, die das Perfusionsmedium mit einem konstanten hydrostatischen Druck von etwa 80 mmHg in die Aorta des Hinterkörperpräparates eintreten läßt. Nach Verlassen der Vena cava inferior fließt das Perfusat durch ein graduiertes Röhrchen, mit dem diskontinuierliche Durchflußmessungen möglich sind. Mit dem Wiedereintritt in den Oxygenator schließt sich der Perfusionskreislauf.

Zu allen Versuchen gehört vor Beginn der Rezirkulation jeweils eine Spülung des Hinterkörpers mit 70 ml Perfusionsmedium, die nach Passage des Präparates verworfen werden. Die Rezirkulation beginnt nach Anschluß des Präparates an den Kreislauf mit einer zehnminütigen Äqulibrierungsphase, an deren Ende die erste Probe aus dem Überlaufgefäß entnommen wird (Zeitpunkt 0'). Weitere Entnahmen folgen nach 20, 40 und 60 Minuten. Gleichzeitig mit den Probenentnahmen wird jeweils auch der Durchfluß durch das Präparat gemessen. Die in das System eingeschaltete Durchflußelektrode (Acid Base Digital Analyzer PHM 72 ; Radiometer, Kopenhagen) macht die ständige Überwachung von pH und pO_2 im Perfusat möglich. Nach Entnahme der letzten Perfusatprobe beenden die Frierstopentnahme von Proben aus dem Musculus gastrocnemius zur Bestimmung der intrazellulären Metabolite und die Probenentnahme zur Ermittlung des Wassergehaltes der Muskulatur den Versuch.

Die Konzentrationen der Muskelmetabolite Lactat und Pyruvat wurden in Anlehnung an (34) auf das Zellwasser bezogen. Die Berechnung erfolgte nach folgender Formel:

$$C_i = \frac{C_m - (C_{pl} \times E)}{(M - E)}$$

Hierbei gilt: C_i = Substratkonzentration im Muskelzellwasser (µmol/ml)

C_m = Substratkonzentration in µmol/g Muskelfeuchtgewicht

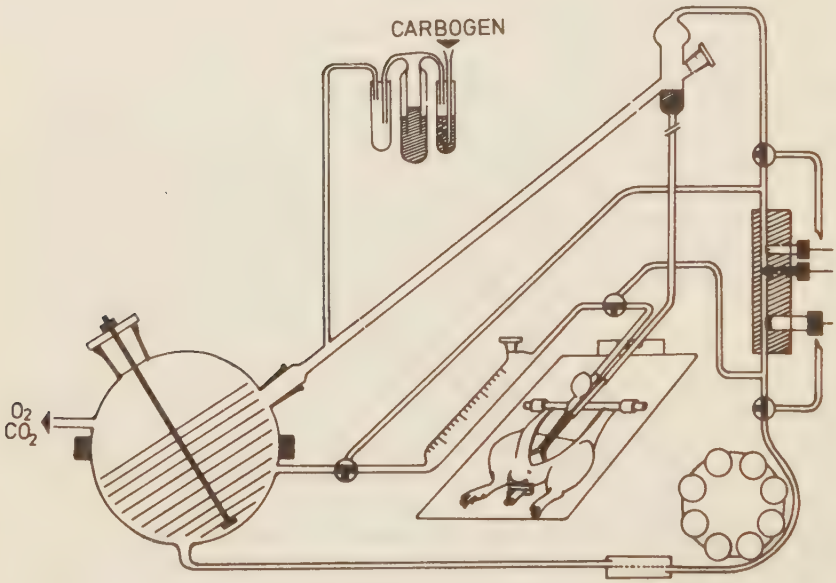
C_{pl} = Substratkonzentration im Plasmawasser (µmol/ml), die sich aus der Konzentration (µmol/ml) im Vollperfusat durch Multiplikation mit dem Faktor 1,11 ergibt (dieser wiederum beschreibt das Verhältnis zwischen dem Wassergehalt des Plasmas von 94 % und dem des Vollperfusats von 85 %).

E = Anteil des Extrzellulärraums am Muskelfeuchtgewicht (0,2 ml/g)

M = Wasseranteil am Muskelfeuchtgewicht (0,77 ml/g)

Ausgewertet wurden die Versuchsergebnisse mit dem t - Test nach Student. Als zweiseitige Signifikanzschranke galt dabei $p < 0,05$. (112)

Schematisierte Darstellung der Perfusionsapparatur



IV. ERGEBNISSE

1.) Kontrollparameter der Perfusionen:

Die Intaktheit der Hinterkörperpräparationen konnte - neben dem makroskopischen Organaspekt (Mikrozirkulation im Bereich der Pfoten) - beurteilt werden anhand der arteriellen pH- und pO_2-Werte, des Durchflusses in der Zeiteinheit und des Wassergehaltes der Muskulatur (Tab. 1).

Der arterielle pH-Wert des Perfusionsmediums zeigte über die Dauer der Versuche, auch bei exogener Lactatbelastung in den meisten und nach Muskelstimulation in drei Versuchsreihen, keine wesentlichen Schwankungen. Eine Abnahme des arteriellen pO_2, die im Verlauf aller Versuche eintrat, aber keine kritischen Ausmaße annahm, läßt sich einerseits auf eine im Versuchsablauf abnehmende Oxygenatorfüllung, andererseits auf eine Teiläquilibrierung des Carbogengemisches im System mit Außenluft zurückführen, welche beim Öffnen des Überlaufgefäßes zur Probenentnahme in das System, in dem leichter Unterdruck herrschte, eindringen konnte.

Die Durchflußrate des Mediums durch die Muskulatur betrug im Mittel etwa 15 ml pro Minute und 30 g Muskel. Sie lag bei sämtlichen Perfusionen stets über den Werten, die bei früheren Untersuchungen als Grenzmarken für das Auftreten einer hypoxiebedingten Steigerung von Lactatproduktion und Glucoseausschöpfung erkannt worden waren (32, 39, 90, 92). Ein Gewebeödem trat während der Perfusionen nicht auf. Der durchschnittliche Wassergehalt der Muskulatur nach Perfusion ist mit 75,5 % w/w in guter Übereinstimmung mit früher ermittelten Daten (92) und unterscheidet sich nicht signifikant von dem nicht perfundierter Tiere, für die ein Wert von im Mittel 74,6 % w/w festgestellt wurde (eigene Untersuchung, n=6).

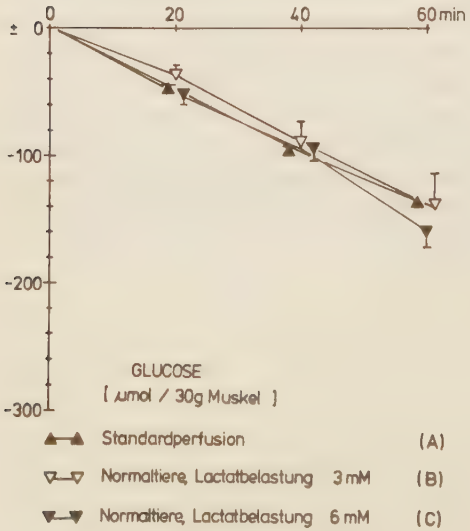
2.) Versuchsgruppe I: Stoffwechselparameter der Skelettmuskulatur unter exogener Lactatbelastung

a) Glucose

Für diese, wie auch für die zweite Versuchsgruppe gilt, daß dem Perfusionsmedium Glucose in einer Konzentration von 11 mMol/l zugesetzt wurde. Am Anfang der Perfusionen wird zum Zeitpunkt 0' eine Glucosekonzentration bestimmt, die im Durchschnitt um etwa 10 % niedriger liegt (Tab. 7). Diese Differenz muß auf die schon vor Versuchsbeginn ablaufende Erythrocytenglykolyse und eine Glucoseaufnahme des Präparates in der Äquilibrierungsphase zurückgeführt werden.

Die Glucoseaufnahme aus dem Medium zeigt einen linearen Verlauf in Abhängigkeit von der Perfusionsdauer (Abb. I,1). Variation des arteriellen Lactatspiegels führt bei Konzentrationserhöhung sowohl um 3 mMol/l als auch um 6 mMol/l nicht zu signifikanter Veränderung der Glucoseaufnahme gegenüber Kontrolltieren (Tab. 2,3,4).

Abb. I.1
Glucoseaufnahme durch die Hinterkörperpräparate (Kumulative)
Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Signifikanz: Keine

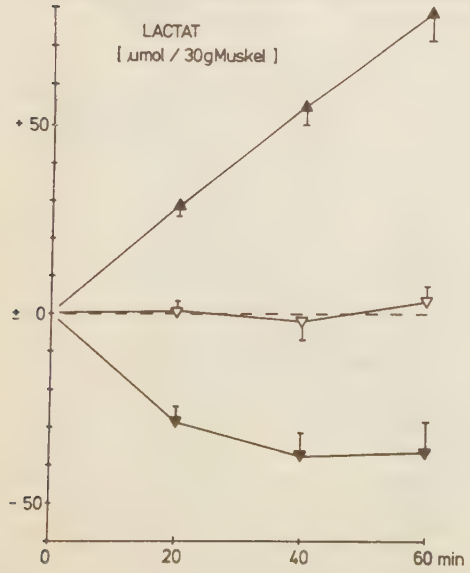


b) Lactat

In der Versuchsreihe ohne Lactatzusatz liegt bei Perfusionsbeginn (0') im Medium eine Lactatkonzentration von durchschnittlich 1,6 mMol/l vor (Tab. 7). Es zeigt sich eine kontinuierliche Abgabe von Lactat durch den Hinterkörper, so daß die Kurve der Kumulative einen fast linearen Verlauf nimmt (Abb. I,2). Ein Teil dieses Lactatanstiegs (ca. 3o µMol/Stunde u. 100 ml) beruht auf der Lactatbildung der Erythrocyten (39,92).

Bei Lactatzusatz (3 mMol/l und 6 mMol/l) liegen die Perfusatkonzentrationen zum Nullzeitpunkt der Perfusion bei 3,5 mMol/l bzw. 5,5 mMol/l. Beide Veränderungen des Lactatspiegels ziehen signifikant unterschiedliche Verhaltensweisen der Muskulatur gegenüber der Kontrollgruppe nach sich (jeweils $p < 0{,}001$). Auch untereinander verhalten sich die beiden Reihen mit erhöhten Lactatspiegeln signifikant verschieden ($p < 0{,}01$) (Abb. I,2; Tab. 2,3,4). Während die Belastung mit 3 mMol/l Lactat zu einem indifferenten Verhalten der Muskulatur führt - es kommt hier zu keiner nennenswerten Aufnahme oder Abgabe von Lactat - so hat die Lactatbelastung mit 6 mMol/l eine zunächst rasche, dann verlangsamte Netto-Aufnahme in den ersten beiden Perfusionsperioden zur Folge, die schließlich im letzten Drittel der Perfusion sistiert.

Abb. I,2: Kumulative Lactatproduktion bzw. -aufnahme durch den Muskel



Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

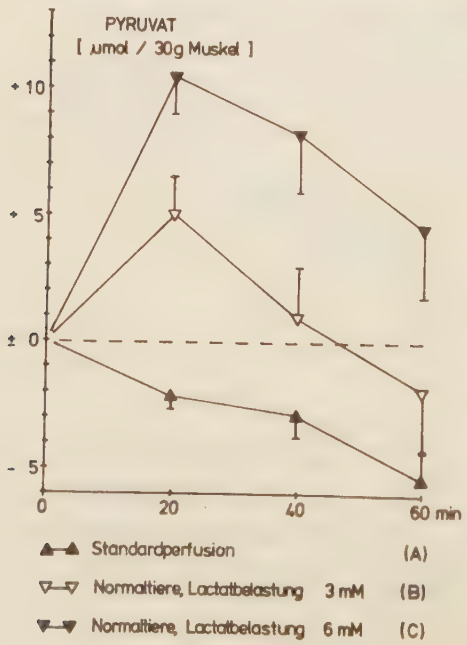
Signifikanz:
A/B, A/C: $p < 0{,}001$
B/C: $p < 0{,}01$

▲—▲ Standardperfusion (A)
▽—▽ Normaltiere, Lactatbelastung 3mM (B)
▼—▼ Normaltiere, Lactatbelastung 6mM (C)

c) Pyruvat

Während bei der Kontrollreihe die 0 min - Pyruvatkonzentration mit 0,18 mMol/l im Mittel nur wenig über der Primärkonzentration des Mediums liegt, hat unter Lactatbelastung offbar schon in der Äquilibrierungsphase eine starke Pyruvatabgabe durch die Muskulatur stattgefunden: Die Werte sind zum Zeitpunkt 0' 0,35 mMol/l und 0,37 mMol/l Pyruvat bei Lactatzusätzen von 3 mMol/l resp. 6 mMol/l (Tab. 7). Summarisch ergibt sich ohne künstliche Lactatspiegelerhöhung eine Aufnahme von Pyruvat im Perfusionsverlauf. Im Gegensatz dazu wird unter Lactatbelastung eine signifikante Produktion von Pyruvat bis zum Zeitpunkt 20' registriert ($p < 0,001$), wobei die Abgabe bei 6 mMol/l Lactatzusatz signifikant höher liegt als bei 3 mMol/l ($p < 0,05$; Abb. I,3). Im Anschluß an diese Ausschüttung zeigen beide Versuchsreihen eine Wiederaufnahme von Pyruvat ähnlichen Ausmaßes. Kumulativ ergibt sich bei 3 mMol/l Lactatzusatz am Perfusionsende eine gegenüber Kontrollen nicht signifikant unterschiedliche Pyruvataufnahme, wogegen infolge der initial hohen Ausschüttung bei 6 mMol/l Lactatzusatz summarisch eine Netto-Freisetzung bestehen bleibt ($p < 0,001$).

Abb. I,3: Kumulative Pyruvatproduktion bzw. -aufnahme durch den Muskel



Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

Signifikanz:

20':

A/B, A/C: $p < 0,001$

B/C: $p < 0,05$

60': A/C: $p < 0,001$

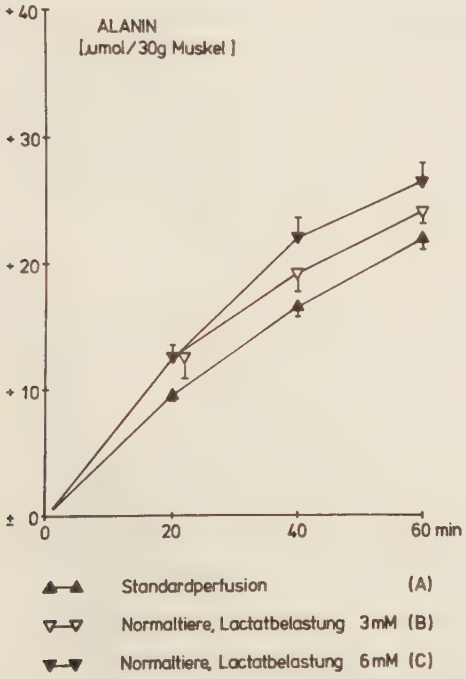
d) Alanin

Die mittlere Ausgangskonzentration von Alanin beträgt ohne Lactatzusatz zum Medium 0,10 mMol/l, bei Lactatspiegelerhöhung um 3 mMol/l und 6 mMol/l liegt sie mit 0,12 und 0,15 mMol/l leicht höher. In Abhängigkeit von der Zeit wird während der Perfusion kontinuierlich Alanin an das Zirkulationsmedium abgegeben. Diese Freisetzung erhöht sich bei Lactatzugabe. Signifikant ist die Mehrproduktion während der ganzen Perfusion jedoch nur bei einem um 6 mMol/l erhöhten Lactatspiegel: In diesem Falle werden in 60 Minuten 20 % mehr Alanin gebildet als unter Kontrollbedingungen ($p < 0,02$) (Abb. I,4; Tab. 2,3,4).

Abb. I,4: Kumulative Alaninbildung durch den Muskel

Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

Signifikanz:
A/C: $p < 0,02$



e) Lactat und Pyruvat im Muskelgewebe (Abb. I,5)

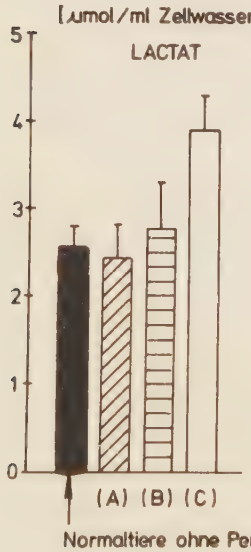
Im Vergleich zu invivo-Werten und Kontrollperfusionen führt Zusatz von 3 mMol/l Lactat nicht zu einer Veränderung der intrazellulären Lactatkonzentration des Musculus gastrocnemius am Ende der Perfusion. Bei 6 mMol/l Lactatzusatz dagegen ist der intrazelluläre Spiegel gegenüber Normalzuständen in vivo und Kontrollperfusionen signifikant erhöht ($p < 0,05$; Tab. 6). Für die intrazellulären Pyruvatspiegel am Perfusionsende läßt sich bei Lactatzugabe sowohl von 3 mMol/l als auch von 6 mMol/l eine gegenüber invivo-Werten und solchen nach Perfusion ohne Lactatzusatz ein Anstieg von über 100 % verzeichnen ($p < 0,001$).

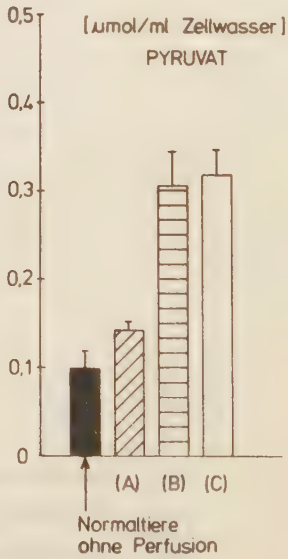
Abb. I,5: Lactat und Pyruvat im Muskelzellwasser, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

Signifikanz:

Lactat: Normaltiere in vivo/C und A/C: $p < 0,05$

Pyruvat: Normaltiere in vivo und A, verglichen mit B und C: $p < 0,001$





Standardperfusion (A)
Normaltiere, Lactatbelastung 3 mM (B)
Normaltiere, Lactatbelastung 6 mM (C)

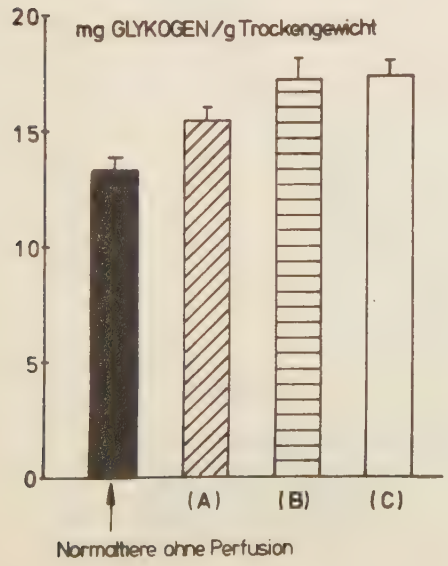
f) Lactat/Pyruvat-Quotienten (Tab. 5)

Die Quotienten steigen entsprechend der Produktion von Lactat und der Aufnahme von Pyruvat im Laufe der Kontrollperfusionen an. Die Erhöhung der Lactatkonzentration im Medium führt entsprechend der primären Abgabe und sekundären Wiederaufnahme von Pyruvat durch die Muskulatur zu einem Abfall mit darauffolgendem Wiederanstieg der Lactat/Pyruvat-Quotienten. Die Veränderungen vollziehen sich innerhalb des physiologischen Bereiches von 10 - 15 (23), d.h., die Quotienten werden bei exogener Lactatbelastung von der Muskulatur "eingestellt". Bei beiden Lactatzusätzen gleicht am Ende der Perfusionen der intrazelluläre Quotient im wesentlichen dem im Perfusat.

g) Glykogen (Tab. 6)

Der Glykogengehalt des M. gastrocnemius ist nach Perfusion mit 3 mMol/l und 6 mMol/l Lactatzusatz gegenüber der Standardperfusionsreihe im gleichen Maße leicht, aber nicht signifikant erhöht. Sowohl nach den Standard- als auch besonders nach den Lactatperfusionen liegen die Glykogengehalte jedoch deutlich höher als bei in vivo-Bestimmungen ($p < 0{,}02$).

Abb. I,6: Glykogengehalt des M. gastrocnemius, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$



Signifikanz:
Normaltiere in vivo/
A, B, C: $p < 0{,}02$

Standardperfusion (A)
Normaltiere, Lactatbelastung 3 mM (B)
Normaltiere, Lactatbelastung 6 mM (C)

3. Versuchsgruppe II: Muskelstoffwechsel untrainierter und trainierter Ratten im Stadium nach erschöpfender Muskelarbeit

Wie bereits im Kapitel III, 1.) beschrieben, liefen die Ratten unmittelbar vor Versuchsbeginn auf dem Laufband bei steigender Geschwindigkeit bis zur Erschöpfung. Die zum Erreichen dieses Zustandes erforderlichen Belastungsintensitäten (Dauer des Laufs und maximal erreichte Geschwindigkeit) mußten in gewissen Grenzen der Konstitution der Tiere angepaßt werden. Sie lagen daher bei untrainierten Normaltieren deutlich niedriger als bei trainierten Tieren, bei denen längere Laufzeiten und größere Laufgeschwindigkeiten bis zum Eintritt des Erschöpfungszustandes notwendig waren.

a) Glucose

Bezüglich der Glucoseausgangskonzentration gelten die Erläuterungen zur ersten Versuchsgruppe. Allerdings muß vermerkt werden, daß in Gruppe II die größten Abweichungen unter den Nennwert von 11 mMol/l vorkommen (Tab. 7). Dieser erste Hinweis auf eine vermehrte Glucoseaufnahme der Muskulatur im Erschöpfungszustand findet seine Bestätigung bei Betrachtung der Kumulative (Abb. II, 1; vergl. Abb. I,1). So führt die muskuläre Erschöpfung (Reihe II, D), verglichen mit Kontrollbedingungen (Reihe I,A) zu fast 100 %-iger Steigerung der Aufnahme von Glucose ($p < 0{,}001$; Tab. 2,3,4). 6 mMol/l Lactatzusatz bewirkt keine Veränderung des Aufnahmeverhaltens der erschöpften Muskulatur gegenüber Glucose. Dagegen ist bei trainierten Tieren im Erschöpfungszustand unter zusätzlicher Lactatbelastung mit 6 mMol/l die Glucoseaufnahme allgemein geringer als bei untrainierten Ratten; der Unterschied ist jedoch - aufgrund der großen Streubreite vor allem bei untrainierten Tieren (wahrscheinlich Ausdruck unterschiedlicher Belastungsintensität) - nicht statistisch abzusichern.

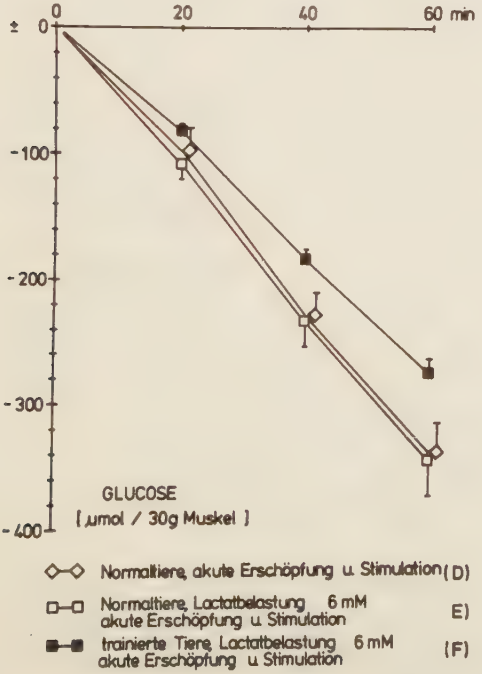


Abb.II,1;
Glucoseaufnahme durch die Hinterkörperpräparate (Kumulative), Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

Signifikanz:
D/E/F: Keine

b) Lactat

Zum Zeitpunkt 0' liegt die Lactatkonzentration nach Erschöpfung ohne externen Zusatz mit 2,27 mMol/l Perfusionsmedium um 40 % höher als ohne vorangehende Arbeitsbelastung (vgl. Reihe I,A; Tab. 7). Im Perfusionsverlauf zeigt sich eine Lactatabgabe, die im zweiten Perfusionsdrittel geringer wird und am Ende praktisch sistiert (Abb. II,2; Tab. 2,3,4). Daraus ergibt sich, daß nach akuter Erschöpfung mit durchschnittlich 48 µMol/h x 30 g Muskel etwa 40 % weniger Lactat produziert wird als bei Kontrollversuchen ohne externe Lactatbelastung ($p < 0,05$; vgl. Abb. I,2). Wird die erschöpfte Muskulatur mit 6 mMol/l Lactat zusätzlich belastet, so kommt es, verglichen mit muskulär erschöpften Präparaten ohne Lactatzusatz, zu einer kontinuierlichen, hochsignifikanten Lactataufnahme ($p < 0,001$), die beim trainierten Muskel jedoch nicht wesentlich höher liegt als beim untrainierten. Zu den Versuchen mit 6 mMol/l Lactatzusatz ohne Erschöpfung (Reihe I,C) ergibt sich ebenfalls kein signifikant unterschiedliches Verhalten (Abb. II,2; Tab. 2,3,4). Allerdings ist der Verlauf der Lactataufnahme im Erschöpfungszustand bei Lactatzusatz annähernd linear bis zum Perfusionsende, während unter sonst gleichen Bedingungen ohne vorherige Erschöpfung im letzten Perfusionsdrittel keine Nettolactataufnahme mehr stattfindet (Reihe I,C).

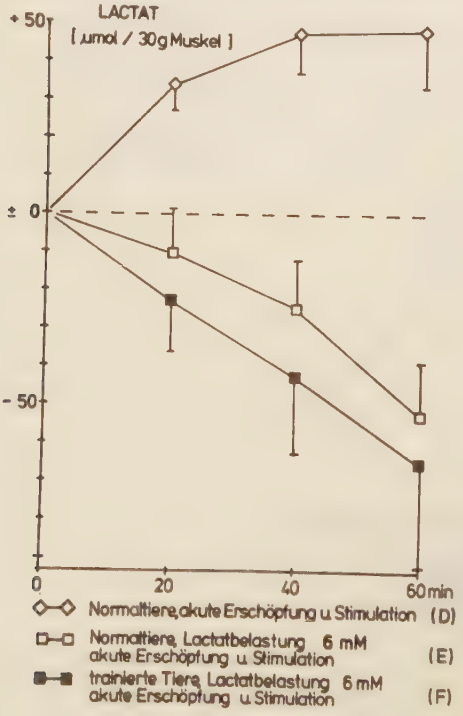


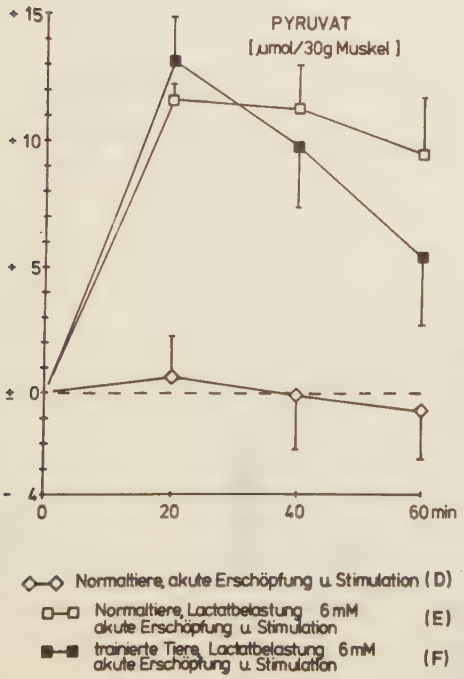
Abb. II,2:
Kumulative Lactatproduktion bzw. -aufnahme durch den Muskel, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

Signifikanz:
D/E und F: $p < 0,001$
A/D: $p < 0,05$

c) Pyruvat

Liegt die Ausgangskonzentration von Pyruvat im Medium bei nicht zusätzlich mit Lactat belasteten, muskulär erschöpften Hinterkörpern mit 0,25 mMol/l um 68 % höher als die Nennkonzentration, was auf eine Pyruvatabgabe in der Äquilibrierungsphase zurückzuführen ist, so zeigt der Perfusionsverlauf bei diesen Versuchen weder nennenswerte Aufnahme noch Abgabe von Pyruvat. Bei Erhöhung des Lactatspiegels um 6 mMol/l reagieren untrainierte und trainierte Muskulatur nach akuter Erschöpfung im ersten Perfusionsdrittel mit einer hochsignifikanten Pyruvatausschüttung ($p < 0{,}001$; Abb. II,3; Tab. 2). Diese hat ein ähnliches Ausmaß wie bei alleinigem Lactatzusatz von 6 mMol/l (vgl. Reihe I, C; Abb. I,3). Die Wiederaufnahme von Pyruvat im weiteren Versuchsablauf vollzieht sich dann allerdings bei untrainierten Tieren in geringerem Maße als bei trainierten. Eine Signifikanz läßt sich für dieses unterschiedliche Verhalten jedoch nicht aufzeigen (Tab.3,4).

Abb. II, 3: Kumulative Pyruvatproduktion bzw. -aufnahme durch den Muskel, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$



Signifikanz:
20':
D/E, D/F: $p < 0{,}001$
60': D/E: $p < 0{,}01$

b) Lactat

Zum Zeitpunkt 0' liegt die Lactatkonzentration nach Erschöpfung ohne externen Zusatz mit 2,27 mMol/l Perfusionsmedium um 40 % höher als ohne vorangehende Arbeitsbelastung (vgl. Reihe I,A; Tab. 7). Im Perfusionsverlauf zeigt sich eine Lactatabgabe, die im zweiten Perfusionsdrittel geringer wird und am Ende praktisch sistiert (Abb. II,2; Tab. 2,3,4). Daraus ergibt sich, daß nach akuter Erschöpfung mit durchschnittlich 48 µMol/h x 30 g Muskel etwa 40 % weniger Lactat produziert wird als bei Kontrollversuchen ohne externe Lactatbelastung ($p < 0,05$; vgl. Abb. I,2). Wird die erschöpfte Muskulatur mit 6 mMol/l Lactat zusätzlich belastet, so kommt es, verglichen mit muskulär erschöpften Präparaten ohne Lactatzusatz, zu einer kontinuierlichen, hochsignifikanten Lactataufnahme ($p < 0,001$), die beim trainierten Muskel jedoch nicht wesentlich höher liegt als beim untrainierten. Zu den Versuchen mit 6 mMol/l Lactatzusatz ohne Erschöpfung (Reihe I,C) ergibt sich ebenfalls kein signifikant unterschiedliches Verhalten (Abb. II,2; Tab. 2,3,4). Allerdings ist der Verlauf der Lactataufnahme im Erschöpfungszustand bei Lactatzusatz annähernd linear bis zum Perfusionsende, während unter sonst gleichen Bedingungen ohne vorherige Erschöpfung im letzten Perfusionsdrittel keine Nettolactataufnahme mehr stattfindet (Reihe I,C).

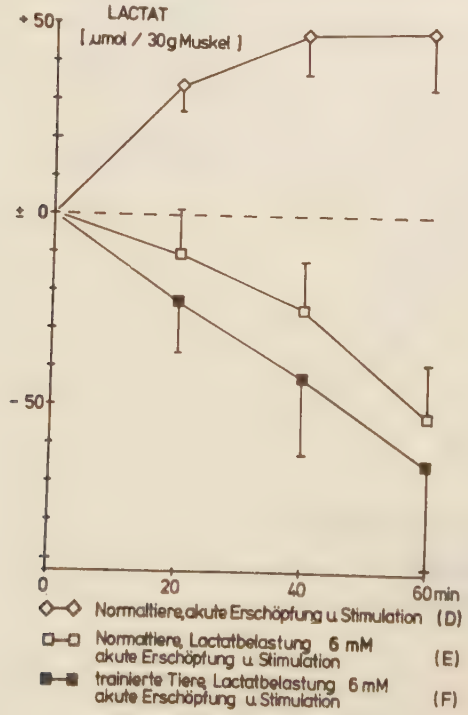


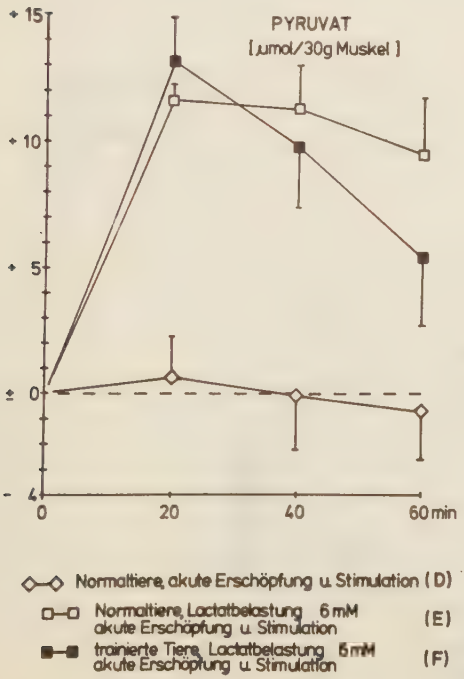
Abb. II,2:
Kumulative Lactatproduktion bzw. -aufnahme durch den Muskel, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

Signifikanz:
D/E und F: $p < 0,001$
A/D: $p < 0,05$

c) Pyruvat

Liegt die Ausgangskonzentration von Pyruvat im Medium bei nicht zusätzlich mit Lactat belasteten, muskulär erschöpften Hinterkörpern mit 0,25 mMol/l um 68 % höher als die Nennkonzentration, was auf eine Pyruvatabgabe in der Äquilibrierungsphase zurückzuführen ist, so zeigt der Perfusionsverlauf bei diesen Versuchen weder nennenswerte Aufnahme noch Abgabe von Pyruvat. Bei Erhöhung des Lactatspiegels um 6 mMol/l reagieren untrainierte und trainierte Muskulatur nach akuter Erschöpfung im ersten Perfusionsdrittel mit einer hochsignifikanten Pyruvatausschüttung ($p < 0{,}001$; Abb. II,3; Tab. 2). Diese hat ein ähnliches Ausmaß wie bei alleinigem Lactatzusatz von 6 mMol/l (vgl. Reihe I, C; Abb. I,3). Die Wiederaufnahme von Pyruvat im weiteren Versuchsablauf vollzieht sich dann allerdings bei untrainierten Tieren in geringerem Maße als bei trainierten. Eine Signifikanz läßt sich für dieses unterschiedliche Verhalten jedoch nicht aufzeigen (Tab.3,4).

Abb. II, 3: Kumulative Pyruvatproduktion bzw. -aufnahme durch den Muskel, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$

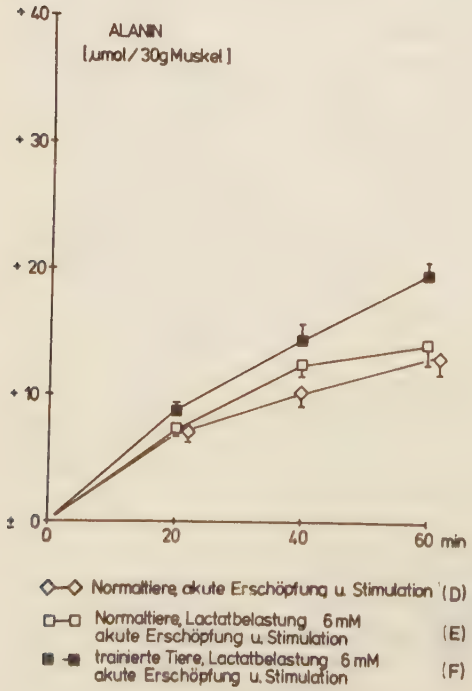


Signifikanz:
20':
D/E, D/F: $p < 0{,}001$
60': D/E: $p < 0{,}01$

d) Alanin

Muskuläre Erschöpfung zieht eine im Vergleich zu Kontrollperfusionen (Reihe I,A; Abb. I,4) signifikante Abnahme der Alaninfreisetzung um 41 % nach sich ($p < 0{,}001$; Tab. 4). Erhöhung des Lactatgehalts im Medium um 6 mMol/l verändert die Produktion von Alanin durch die erschöpfte Muskulatur praktisch nicht (Tab. 4). Hier zeigt sich somit ein Unterschied im Verhalten der erschöpften Muskulatur gegenüber dem der nicht erschöpften, bei der eine Lactatspiegelerhöhung um 6 mMol/l zu einer leicht vermehrten Alaninproduktion führt (Reihen I,A und I,C). Der trainierte, lactatperfundierte Muskel gibt im Zustand akuter Erschöpfung mit etwa 20 µMol/h x 30 g signifikant (p 0,02) mehr Alanin an das Perfusionsmedium ab als der untrainierte (14 µMol/h x 30 g Muskel; Tab. 4). Diese vermehrte Freisetzungsrate von Alanin durch den erschöpften trainierten Muskel unter zusätzlicher Lactatbelastung ist aber noch immer weitaus kleiner als die des mit 6 mMol/l Lactatzusatz perfundierten Muskels im Normalzustand ($p < 0{,}01$; Tab. 4; vgl. Reihe I,C).

Abb. II,4: Kumulative Alaninproduktion durch den Muskel, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$



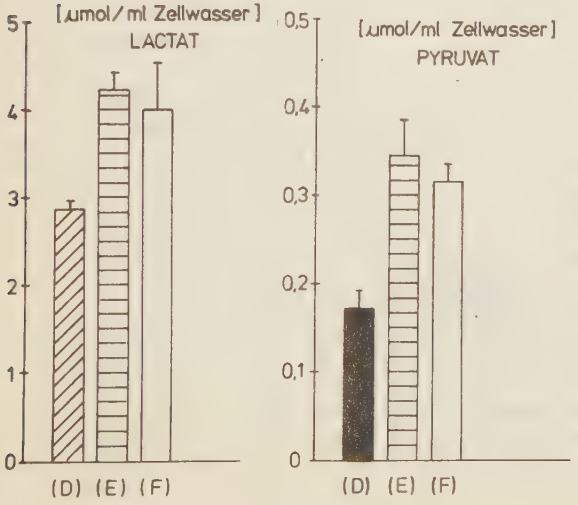
e) Lactat und Pyruvat im Muskelgewebe (Abb. II,5)

Muskulär erschöpfte Tiere zeigen nach 60' Perfusion keine wesentliche Veränderung der intrazellulären Spiegel von Lactat und Pyruvat. Zusätzliche Lactatbelastung mit 6 mMol/l führt zu einem Anstieg der zellulären Gehalte von Lactat ($p < 0,001$) und Pyruvat ($p < 0,01$) sowohl im trainierten als auch im untrainierten Musculus gastrocnemius, wobei der unterschiedliche Traininszustand bei beiden Metaboliten keinen signifikanten Unterschied bewirkt (Tab. 6).

f) Lactat/Pyruvat-Quotienten (Tab. 5)

Im Zustand muskulärer Erschöpfung steigen die Quotienten über die Dauer der Perfusionen an, allerdings in geringerem Maße als bei Standardperfusionen (vgl. I,A). Dies ist zurückzuführen auf die geringere Lactatproduktion und die fehlende Pyruvataufnahme der erschöpften Muskulatur. Zusätzliche Lactatbelastung führt entsprechend dem Verlauf der Pyruvatproduktion sowohl bei trainierten als auch bei untrainierten Tieren initial zu einem Abfall mit darauffolgendem geringen Wiederanstieg der Lactat/Pyruvat-Quotienten im Perfusat, die dabei ebensowenig wie die intrazellulären Werte am Ende der Perfusionen den Bereich von 10 - 15 verlassen.

Abb. II,5: Lactat und Pyruvat im Muskelzellwasser, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$



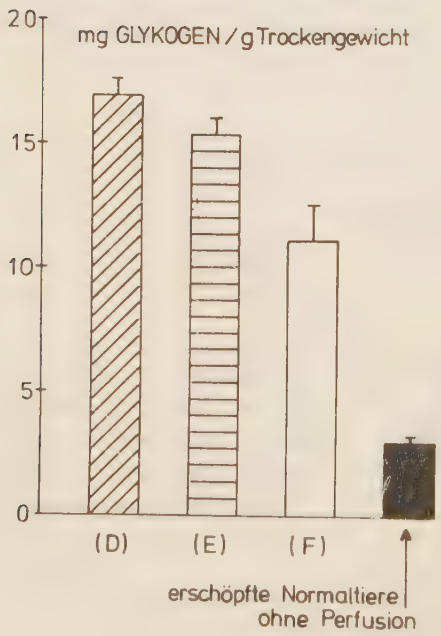
Signifikanz:
Lactat: D/E, D/F: $p < 0,001$
Pyruvat: D/E, D/F: $p < 0,01$

Normaltiere, akute Erschöpfung (D)
Normaltiere, Lactatbelastung 6 mM, akute Erschöpfung (E)
Trainierte Tiere, Lactatbelastung 6mM, akute Erschöpfung (F)

g) Glykogen

Als Vergleichsgröße zu den Perfusionsversuchen wird in einer gesonderten Versuchsreihe der durchschnittliche Glykogengehalt des Musc. gastrocnemius unmittelbar nach akuter Erschöpfung (Lauf und intraoperative Stimulation) und Spülung des Hinterkörperpräparates ermittel (Tab. 6; Abb. II,6). Er liegt mit durchschnittlich 3,0 $\pm$ 0,25 mg/g Trockengewicht deutlich niedriger als bei allen drei Perfusionsreihen nach Erschöpfung, bei denen offenbar während der Perfusion eine erhebliche Glykogensynthese stattfindet. Verglichen mit dem Glykogengehalt untrainierter Muskulatur nach Erschöpfung und Perfusion sowohl ohne als auch mit 6 mMol/l Lactatzusatz weist die trainierte Muskulatur nach Erschöpfung und Lactatperfusion eine leicht, aber nicht signifikant, niedrigere Glykogenkonzentration auf (Tab. 6; Abb. II, 6).

Abb. II,6: Glykogengehalt der Muskulatur, Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$



Signifikanz:
Erschöpfte Normaltiere ohne Perfusion, verglichen mit D,E,F: $p < 0,001$

Normaltiere, akute Erschöpfung (D)
Normaltiere, Lactatbelastung 6 mM, akute Erschöpfung (E)
Trainierte Tiere, Lactatbelastung 6 mM, akute Erschöpfung (F)

V. DISKUSSION

1. Lactatutilisation durch die Skelettmuskulatur von Normaltieren

Über Lactatkonzentrationen im arteriellen Blut des Menschen unter submaximalen und maximalen Arbeitsbelastungen liegen zahlreiche Befunde vor (14,15,17,18,26,57,78,65).
Die in er Literatur angegebenen Spitzenwerte schwanken in Abhängigkeit von Versuchsanordnung und Trainingszustand der Versuchspersonen zwischen 6 mMol/l und 15 - 20 mMol/l. Unter Berücksichtigung dieser Angaben und der Untersuchungen von Brooks et al. (11), die bei Ratten im Erschöpfungszustand einen arteriellen Lactatspiegel von mehr als 6 mMol/l fanden, erscheinen die in der vorliegenden Arbeit vorgenommenen künstlichen Erhöhungen des Lactatspiegels im Perfusat um 3 mMol/l bzw. 6 mMol/l als durchaus mäßig und innerhalb des physiologischen Rahmens.

Die Produktion von Lactat durch die nicht arbeitende Skelettmuskulatur ist, vor allem im Hungerzustand,wiederholt nachgewiesen worden, unter anderem in vivo am Menschen (14,23,67) sowie am tierischen invitro-Präparat (12), speziell auch am isolierten Hinterkörper (32,38). In Übereinstimmung mit diesen Angaben findet sich eine fast lineare Lactatfreisetzung der Versuchsreihe ohne exogene Lactatbelastung (I,A). Bemerkt werden muß hierzu, daß das aus der Erythrocytenglykolyse entstehende Lactat etwa 30 % der insgesamt freigesetzten Menge ausmacht (0,5 µMol/min und 100 ml Perfusat) (92).

Bezüglich der Aufnahme von Lactat durch die Muskulatur finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. Keul, Doll und Keppler berichten über eine deutliche Lactataufnahme durch den trainierten Muskel unter submaximaler Belastung bei im arteriellen Blut nicht erhöhtem Spiegel (14). Olsen und Petersen (67) fanden eine Extraktion von Lactat durch die ruhende Skelettmuskulatur in Zuständen mit auf 7 - 8 mMol/l erhöhten Blutspiegeln, die sie zum einen durch Ergometerbelastung, zum andern durch Lactatinjektion erzielten. Daß der ruhende Muskel bei vermehrtem arteriellem Angebot Lactat aufnimmt, schlossen Karlsson und Mitarbeiter aus einer Konzentrationserhöhung von Lactat im ruhenden Muskel bei gleichzeitiger Belastung anderer Muskelgruppen (71). Über diese am Menschen in vivo gewonnenen Be-

funde hinaus zeigten einzelne invitro-Anordnungen vergleichbare Ergebnisse: Stainsby u. Welch (12) sowie Hirche u. Mitarb. (26) beobachteten bei Stimulationsversuchen am Hunde-Gastrocnemius nach primärer Produktion eine sekundäre Wiederaufnahme von Lactat.

Bei den vorliegenden Untersuchungen wird mit dem Lactatzusatz von 3 mMol/l, das entspricht einer aktuellen Perfusatkonzentration von etwa 4 mMol/l, genau die arterielle Konzentration geschaffen, bei der sich die Skelettmuskulatur indifferent verhält, also weder eine Nettoaufnahme noch eine Abgabe von Lactat auftritt. Vergleichbare Befunde wurden kürzlich durch Mc Lane und Holloszy bei Perfusionsversuchen erhoben (107). Die Spiegelerhöhung um 6 mMol/l kehrt das Verhalten der ruhenden Muskulatur dagegen um, es kommt zu einer deutlichen Lactataufnahme. Schon daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß die Lactatbildung durch die Muskulatur kein Vorgang sein kann, der unabhängig vom Blutspiegel dieses Substrates ist. Ein einfacher Konzentrationsausgleich durch Diffusion und intrazelluläre Akkumulation von Lactat als alleinige Ursache des unterschiedlichen Verhaltens bei den Perfusionsreihen läßt sich durch folgende Überlegungen ausschließen: Da das Lactatmolekül sich schnell über die Wasserkompartimente des Körpers verteilt (15,98), hätte eine bei Zugabe von 6 mMol/l durch passive Äquilibrierung erfolgende Lactataufnahme ausschließlich bis zum Ende des ersten Perfusionsdrittels registriert werden können. Die Aufnahme setzte sich tatsächlich aber über diesen Zeitraum hinaus fort. - Die am Perfusionsende bei den Reihen mit exogener Lactatbelastung (I,B u. I,C) intrazellulär gemessenen Lactatkonzentrationen lagen weit unter denen, die bei einem Konzentrationsausgleich zu erwarten gewesen wären. - Bei den Perfusionen mit 3 mMol/l Lactatzusatz läßt sich unter Berücksichtigung der verschiedenen Lactat- und Wassergehalte von Perfusat und Hinterkörperpräparat eine durch Diffusion mögliche Aufnahme von etwa 34 µMol/30 g Muskel berechnen. Die bei der Kontrollreihe ohne Lactatzusatz (I,A) endogen produzierte Lactatmenge von 80 µMol/30 g liegt aber wesentlich höher als dieser Wert, so daß in der Reihe mit 3 mMol/l exogener Lactatbelastung (I,B) unter der Annahme einer unveränderten glykolytischen und oxidativen Aktivität nicht die beschriebene Indifferenz, sondern eine kräftige Lactatabgabe hätte resultieren müssen.

Daß auf ein erhöhtes Lactatangebot der Muskelstoffwechsel mit einer Veränderung reagiert, wird klarer bei einer Analyse der Pyruvatspiegel im Medium. Im Gegensatz zu der bei normaler Lactatkonzentration erfolgenden leichten Pyruvataufnahme (Kontrollreihe I,A), die von Keul und Mitarbeitern (13,14) und Olsen und Petersen (67) auch am menschlichen Muskel in vivo beschrieben wurde, kommt es bei Perfusion sowohl mit 3 mMol/l als auch mit 6 mMol/l Lactatzusatz zu einer sehr starken initialen Pyruvatproduktion, welche sich durch zwei Mechanismen erklären läßt, die nebeneinander wirksam sein könnten: Einmal ist bei genügendem cytoplasmatischem Gehalt an oxidiertem NAD^+ im Sinne der Einstellung des physiologischen Reaktionsgleichgewichts der Lactatdehydrogenasereaktion mit einer Pyruvatbildung durch Lactatdehydrierung zu rechnen. Der Umstand, daß die intrazellulären Lactat/Pyruvat-Quotienten am Ende der Perfusionen gut mit dem von Keul und Mitarbeitern (23) für die ruhende Skelettmuskulatur und von Hohorst und Mitarbeitern (99) bzw. Bücher und Klingenberg (100) für andere Gewebe angegebenen Bereich von 10 - 15 übereinstimmen, stützt diese Annahme. Zum zweiten ist aber auch an einen durch Produkthemmung der Lactatdehydrogenase entstehenden Stau von glykolytisch gebildetem Pyruvat zu denken. Invitro-Untersuchungen der LDH-Enzymkinetik durch Karlsson (58) zeigten eine 50 %-ige Verminderung der maximalen Reaktionsgeschwindigkeit für die LDH-Vorwärtsreaktion (Pyruvat nach Lactat) bei Lactatkonzentrationen von 3 mMol/l. Zwar liegen die Werte der intrazellulären Lactatspiegel für den Zeitpunkt der maximalen registrierten Pyruvatausschüttung nicht vor, doch schließen die am Perfusionsende gemessenen Werte den Gedanken an das Wirksamsein einer LDH-Hemmung nicht aus.

Aus der auf den Pyruvatgipfel folgenden Wiederaufnahme von Pyruvat durch die Hinterkörper bei beiden exogenen Lactatbelastungen läßt sich der Schluß ziehen, daß in den letzten beiden Versuchsdritteln vermehrt Pyruvat dem intrazellulären "Pool" durch Oxidation oder Einschleusung in andere Stoffwechselwege entzogen wurde.
Weder 3 mMol/l noch 6 mMol/l Lactatzusatz führte zu einer wesentlichen Veränderung der Glucoseaufnahme durch die Muskulatur, was vordergründig darauf schließen läßt, daß die gewählten Zusätze den Glucose-

stoffwechsel nicht verändern. Möglich ist jedoch, daß unter den Bedingungen der Lactatutilisation ein gewisser Anteil der Glucose in die muskuläre Glykogensynthese eingeschleust wurde. Allerdings bleibt zu bedenken, daß für die leichte Vermehrung des Glykogengehalts in der Unterschenkelmuskulatur lactatperfundierter Hinterkörper keine Signifikanz aufgezeigt werden konnte.

Bei Inkubationsversuchen des isolierten M. soleus der Ratte unter Zusatz von 8 mMol/l Lactat wiesen Pearce und Connett bei gleichbleibender Glucoseaufnahme eine Steigerung der Glykogensynthese aus Glucose um 100 % nach. Die vermehrte Einschleusung von Glucose in die Glykogenese wurde ohne summarische Veränderung des oxidativen Stoffwechsels möglich durch Verminderung der Glykolyserate bei gesteigerter Lactatoxidation (83).

Die sowohl bei den Standardperfusionen als auch bei den Versuchsreihen mit zusätzlicher exogener Lactatbelastung gegenüber in vivo-Befunden erhöhten Muskelglykogengehalte am Ende der Perfusion sind zu erklären dadurch, daß geringe Glykogenverluste durch Excitationsphänomene zu Beginn der Narkose während der Perfusion wieder ausgeglichen werden. Außerdem ist daran zu denken, daß bei hohem Glucoseangebot im Perfusat die nach 24-stündiger Nahrungskarenz der Versuchstiere vor Versuchsbeginn verkleinerten Glykogendepots während der Perfusion aufgefüllt werden.

Hinsichtlich der Möglichkeit und Bedeutung einer muskulären Gluconeogenese mit darauffolgender Glykogensynthese aus Lactat bzw. Pyruvat gehen die Meinungen weit auseinander: Bendall und Taylor stellten bei Inkubationsversuchen mit Froschmuskeln in glucosefreier, lactatangereicherter Ringerlösung oberhalb einer Lactatkonzentration von 7 mMol/l eine Korrelation fest zwischen Lactatschwund in der Lösung und Glykogenneubildung im Muskel (61). Der Einbau von C^{14}-Lactat in das Glykogen von Rattenmuskelpräparaten in glucose- und lactathaltiger Ringerlösung wurde durch Bär und Blanchaer nachgewiesen (62). Allerdings experimentierten beide Forscherteams mit teilweise unphysiologisch hohen Lactatzusätzen von bis zu 50 mMol/l. Mc Lane und Holloszy entdeckten, daß die Fähigkeit der Skelettmuskulatur zur Glykogensynthese aus verschiedenen Substraten entsprechend der unter-

schiedlichen enzymatischen Ausstattung der Muskelfasern uneinheitlich ist. Während den Fasern des M. soleus der Ratte die Fähigkeit zur Glykogensynthese aus angebotenem Lactat völlig fehlt, Glucose somit den einzigen Glykogenpräkursor für diesen Muskel darstellt, ist der größte Teil der Fasern des histochemisch heterogen aufgebauten M. gastrocnemius bei Angebot von Lactat als einzigem Substrat zur Glykogensynthese in der Lage (107).

Bei in vivo-Versuchen am Menschen fanden Hermansen und Vaage nach erschöpfender Musklarbeit eine weitgehende Entsprechung zwischen Abfall des Lactatspiegels in der Muskulatur und Wiederanstieg des muskulären Glykogengehaltes (63). Eine Glucoseaufnahme, die in ihrem Ausmaß der Glykogenese ähnlich gewesen wäre, fand dabei ebensowenig statt wie eine den Lactatschwund in der Muskulatur quantitativ erklärende Abgabe vonLactat oder Alanin an die Zirkulation. Die Untersucher werteten diese als Bestätigung der schon von Meyerhof 1920 aufgrund von Versuchen mit isolierten Froschgastrocnemien formulierten These, daß ein Großteil der im Muskel unter Belastung gebildeten Milchsäure für die Resynthese von Glykogen verbraucht werde (64).

Andererseits ist nach Isotopenversuchen von Omachi und Lifson (24) bzw. Brooks und Mitarbeitern (11) eine nennenswerte Bildung von Glykogen aus aufgenommenem Lactat in Zuständen mit erhöhtem Blutlactatspiegel nicht zu erwarten. Auch aufgrund der besonderen enzymatischen Ausstattung der Muskulatur erscheint eine quantitativ bedeutungsvolle muskuläre Gluconeogenese nicht sehr wahrscheinlich: Konnten von Newsholme und Mitarb. in verschiedenen Wirbeltiermuskeln die Gluconeogenese-Schlüsselenzyme Fructosediphosphatase, Phosphoenolpyruvatcarboxykinase und Malatenzym (NADP-abhängige Malatoxidoreduktase) in geringer Aktivität nachgewiesen werden (etwa 1/10 der Aktivitäten in der Leber), so waren die Aktivitäten von Pyruvatcarboxylase und Glucose-6-Phosphatase dagegen nicht nachzuweisen. Der Umstand, daß die genannten höheren Enzymaktivitäten in histochemisch als "weiß" klassifizierten, d.h., vornehmlich auf glykolytische Energiegewinnung angewiesenen, Muskelfasern gemessen wurden, weist nach Ansicht der Untersucher auf eine Bedeutung eher bei der Regu-

lation der anaeroben Glykolyse als bei einer msukulären Gluconeogenese hin (105,106).
In der vorliegenden Arbeit konnten keine Befunde erhoben werden, die eine der beiden gegensätzlichen Anschauungen eindeutig bestätigt hätten. Dies mag darin begründet sein, daß zur Bestimmung der zellulären Metabolitkonzentrationen die Unterschenkelmuskulatur im Ganzen ohne Rücksicht auf unterschiedliche Stoffwechseleigenschaften der Muskelfasern erfaßt wurde, wodurch mögliche Synthesesteigerungen von Glykogen unter Lactatperfusion in einem Teil der Fasern verwischt werden.

Der charakteristische Verlauf von Pyruvatbildung und -wiederaufnahme während der Perfusionen mit Lactatzusatz läßt den Schluß zu, daß hier vor allem der oxidativen Decarboxylierung durch den mitochondralen Pyruvatdehydrogenasekomplex mit nachfolgender Einschleusung in Citratzyklus und Endoxidation eine größere quantitative Bedeutung zukommt. Wie Untersuchungen der letzten Jahre ergaben, handelt es sich bei der Pyruvatdehydrogenase um ein interkonvertierbares Enzym, dessen aktive Form durch Phosphorylierung inaktiviert wird (44-48, 50-52, 55, 56). Aktivierung und Inaktivierung werden durch spezifische Phosphorylasen bzw. Kinasen, die dem Pyruvatdehydrogenasekomplex assoziiert sind, vollzogen. Hohe mitochondrale ATP-Konzentrationen fördern die Kinasereaktion. Für Nerven- und Fettgewebe, Leber und Herzmuskel zeigte es sich, daß die ATP-induzierte Pyruvatdehydrogenaseinaktivierung durch Erhöhung der Pyruvatkonzentration vermindert wurde, vermutlich über negative Beeinflussung der Kinasereaktion (45-47, 50, 55, 56). Unter der Annahme, daß dies auch für die Skelettmuskulatur zutrifft, kann aus den vorliegenden Daten auf eine Aktivitätssteigerung der Pyruvatdehydrogenase geschlossen werden. Diese träte als Folge einer Pyruvatakkumulation ein, welche aus der hohen initialen Ausschüttung abzuleiten ist. Die Aktivitätssteigerung müßte dann sekundär die Wiederaufnahme des gebildeten Pyruvats einleiten. Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß in den Versuchsreihen mit exogenem Lactat die Lactat/Pyruvat-Quotienten im Perfusionsmedium auf den Bereich 10-15 eingeregelt werden, wogegen im Falle der Kontrollreihe ein kontinuierlicher Anstieg zu verzeichnen ist. Dies läßt daran denken, daß neben der absoluten Höhe des Lactatangebotes für die Produktion von Pyruvat durch

die Muskulatur die Geschwindigkeit der Spiegelerhöhung des Substrates von entscheidender Bedeutung ist. Die plötzliche "Konfrontation" erfolgt in den Reihen mit Lactatzusätzen direkt zu Perfusionsbeginn, bei den Kontrollversuchen stellt sie sich erst allmählich "einschleichend" ein (Reihe I,A).

In Übereinstimmung mit der Annahme einer Substrataktivierung der Pyruvatdehydrogenase steht die bei früheren Untersuchungen gemachte Beobachtung, daß bei Zusatz von 1 - 2 mMol/l Pyruvat zum Perfusionsmedium der Hinterkörper zur Aufnahme von 180 µMol/Stunde und 30 g Muskel Pyruvat ohne Beeinflussung der Glucoseaufnahme in der Lage ist (92).

Neben der Verminderung des Lactatspiegels im Perfusat durch Dehydrierung zu Pyruvat und dessen anschließende Oxidation besteht noch die Möglichkeit der Pyruvattransaminierung zu Alanin, dem wesentlichen Schritt des von Felig (102) postulierten und von Ruderman und Mitarb. (101,35) am isoliert perfundierten Hinterkörper näher untersuchten Glucose-Alanin-Zyklus. Von Felig und Wahren (73) wurde eine strenge Korrelation zwischen den Blutspiegeln von Pyruvat und Alanin gefordert, wobei letzterem wegen der angenommenen Umwandlung von 13 - 18 % der muskulär aufgenommenen Glucose zu Alanin eine erhebliche Bedeutung für die hepatische Gluconeogenese zukäme (73; S. 205 in 78). Versuche von Pozefsky und Tancredi mit Pyruvatinfusion am menschlichen Vorderarm bestätigten zwar die Mehrproduktion von Alanin bei Zuständen vermehrten Pyruvatangebots, ließen jedoch Zweifel aufkommen an der quantitativen Bedeutung dieses Schritts für die Gluconeogenese (72). Aufschlußreich erscheinen in diesem Zusammenhang Untersuchungen von Garber, Karl und Kipnis (40), die bei invitro-Muskelinkubationen eine weitgehende Unabhängigkeit von Kohlenhydratstoffwechsel einerseits und summarischer Freisetzung der Aminosäuren Alanin, Glutamat und Glutamin andererseits feststellten. Sie zogen den Schluß, daß die Freisetzung der Aminosäuren und von Pyruvat durch den Muskel untereinander in einer Wechselbeziehung stehen, wobei für das jeweilige Freisetzungsmuster in erster Linie die Verfügbarkeit von Stickstoffäquivalenten und von Kohlenstoffskeletten aus dem Aminosäurenkatabolismus entscheidend sind. Danach wäre eine Produktion von Alanin durch die lactatbelastete Muskulatur eher ein Nebenweg des Stoff-

wechsels in Abhängigkeit von der Glutamatmenge, die für die Alaninaminotransferasereaktion zur Verfügung steht. So führte denn auch bei Garber u. Mitarb. das Angebot von NH_4^+-Ionen zu verminderter Pyruvat-, aber gesteigerter Alanin-, Glutamat- und Glutaminbildung, was sich durch Übertragung des Stickstoffs auf Ketoglutarat, nachfolgende weitere Aminierung durch Glutaminsynthetase oder Transaminierung durch Alaninaminotransferase erklären läßt. Ruderman u. Mitarb. (35,101) bestätigten diese Gesetzmäßigkeiten für den Rattenhinterkörper in ihren Versuchen mit Ammonium- und Leucinzusatz, wobei letzteres wegen seiner bevorzugten muskulären Oxidation ein physiologisch wichtiger NH_3-Lieferant zu sein scheint (33). Die Bedeutung eines vermehrten Lactatangebots für die muskuläre Alaninsynthese deutet sich in einigen Versuchen von Ruderman und Berger an, in denen ein Zusatz von 10 mMol/l Lactat zum Perfusat eine Steigerung der Pyruvat- und Alaninbildung zur Folge hatte.

Die vorliegende Arbeit zeigt ebenfalls, daß eine Erhöhung des Lactatspiegels zu einer Mehrproduktion von Alanin durch die Muskulatur führt, wenn eine Nettoaufnahme von Lactat stattfindet. Allerdings hat diese nur bei 6 mMol/l Lactatzusatz signifikante Steigerung im Vergleich zur Lactataufnahme, primären Pyruvatproduktion und sekundären Pyruvatreutilisation durch die Muskulatur sehr geringe Ausmaße (Steigerung um 4,5 µMol/h und 30 g Muskel). Das Verhältnis zwischen Pyruvat- und Alaninbildung stützt die schon nach anderen Perfusionsversuchen des Instituts mit variierten Glucose- und Pyruvatspiegeln formulierte Vermutung, daß die Alaninbildung nicht so sehr durch die Pyruvatbereitstellung als vielmehr durch hormonell bedingte Änderungen der Verfügbarkeit freier Aminosäuren gesteuert wird (92,93,111),

2. Lactatutilisation durch die Skelettmuskulatur erschöpfter untrainierter und trainierter Normaltiere

In Untersuchungen am Menschen stellten Keul und Mitarbeiter eine Ausschöpfung der Blutglucose in Proportionalität zur Arbeitsbelastung der Muskulatur fest, wobei sich die Glucoseextraktion mit Beendigung der Arbeit wieder sprunghaft verminderte (13,14). Berger und Mitarbeiter wiesen am Hinterkörperpräparat während elektrischer Muskelstimulation einen mehrfachen Anstieg der Glucoseaufnahme nach (34,38). Diese direkte Auswirkung muskulärer Aktivität auf die Glucoseaufnahme wurde durch Untersuchungen unseres Institutes bestätigt (39).

Im Gegensatz zu den erwähnten in vivo-Befunden persistiert bei den Versuchen der vorliegenden Arbeit die Glucoseaufnahmesteigerung im Erschöpfungszustand während der gesamten Perfusionsdauer, so daß gegenüber Kontrollreihen dem Perfusionsmedium bis zu 150 % mehr Glucose entzogen wird. Ähnliche Beobachtungen wurden von anderen Untersuchern gemacht: Holloszy und Narahara berichten über ein mehrstündiges Fortbestehen der durch elektrische Reizung an der Froschmuskulatur hervorgerufenen Permeabilitätserhöhung der Zellmembranen für 3-Methylglucose (95); Arvill fand nach Stimulation eine über mindestens drei Stunden anhaltende Zunahme der Glucoseaufnahme durch den isolierten Musculus Levator ani der Ratte (96).

Es stellt sich die Frage, weshalb die bei in vivo-Untersuchungen mit Beendigung der Arbeit gemessene Reduktion der Glucoseaufnahme (13,14) bei den Perfusionsversuchen nach Muskelstimulation nicht nachzuweisen ist. Im intakten Organismus benutzt die Muskulatur mit zunehmender Belastung freie Fettsäuren als Energiequelle (14,31); vor allem im Hungerzustand werden auch bevorzugt Ketonkörper verbrannt (32). Denkbar ist, daß das Fehlen dieser Substrate im Perfusionsmedium bei den Versuchen nach erschöpfender Stimulation die im intakten Organismus normalerweise wirksamen Regelmechanismen der Glucoseaufnahme außer Kraft setzt. Dem ist entgegenzuhalten, daß bei von Berger durchgeführten Perfusionsversuchen der Zusatz von freien Fettsäuren oder von Ketonkörpern zum Perfusat weder in Ruhe noch während Muskelstimulation eine Veränderung der Glucoseaufnahme nach sich zog (38). Andererseits muß berücksichtigt werden, daß regulierende hormonelle Einflüsse auf den Muskelstoffwechsel nach Präparation und Anschluß des Hinterkörpers an das Perfusionssystem ausfallen.

Schließlich besteht die Möglichkeit, daß die zu Beginn der Perfusionen stark verminderten Muskelglykogengehalte (Tab. 6; Abb. II,6) über eine verstärkte Glykogenresynthese die dauerhafte Steigerung der Glucoseaufnahme mitbedingen. Die Glykogenresynthese während der Perfusion erreicht beträchtliche Ausmaße und ist bilanzmäßig mit der Glucoseaufnahme zu korrelieren.

Bergström und Hultmann fanden bei in vivo-Messungen am Menschen eine Zunahme des Muskelglykogengehaltes bis mindestens zum dritten Tag nach erschöpfender Belastung (94).
Fell und Mitarbeiter wiesen an intakten Ratten nach erschöpfungsbedingtem weitgehendem Glykogenverlust der Muskulatur in den darauffolgenden 24 Stunden eine andauernde, in Abhängigkeit von der Nahrungszufuhr teils überkompensatorische, Neubildung nach, deren Maximum bereits in den ersten drei Stunden lag (113).
In Übereinstimmung mit diesen Befunden steht in der vorliegenden Untersuchung die Verminderung des Glykogengehalts nach muskulärer Erschöpfung und die während der Perfusionen unabhängig vom Lactatzusatz in gleichem Ausmaß erfolgende Resynthese. Die im Mittel leicht niedrigere Glykogenkonzentration der trainierten Muskulatur gegenüber der untrainierten spiegelt möglicherweise den höheren Belastungsgrad der trainierten Tiere vor der Perfusion mit entsprechend stärkerer Entleerung der Glykogendepots wieder.

Interessant ist der Vergleich der Lactatproduktion im Perfusionsverlauf nach Erschöpfung (Reihe II, D) und bei Standardperfusion (Reihe I,A). Die geringere und schließlich im letzten Versuchsdrittel ganz sistierende Lactatabgabe der erschöpften Muskulatur könnte auf einer Abnahme der glykolytischen Bildung beruhen. Diese wiederum müßte dann als Folge einer durch die Arbeit gesteigerten Pyruvatdehydrogenaseaktivität angesehen werden, wie sie von Hennig sowie Hagg und Mitarbeitern nachgewiesen wurde (43,44). Ein gesteigerter mitochondraler Pyruvatdurchsatz mit Einschleusung in die Endoxidation würde dann, auch bei größerer glykolytischer Aktivität (38) mit entsprechendem cytoplasmatischem Anfall von Reduktionsäquvalenten, zu einer Verminderung der Lactatbildung führen. Die bei der Versuchsreihe nach Elektrostimulation (II,D) gegenüber Standardperfusionen (I,A) durch-

gehend niedrigeren Lactat/Pyruvat-Quotienten lassen diese Überlegung zu. Berger stellte bei seinen Perfusionen neben der während Muskelarbeit erhöhten Glykolyserate auch eine Zunahme der gleichzeitig ablaufenden Lactatoxidation fest (38). In der Annahme, daß diese beschleunigte Lactatoxidation, d.h., die ihr wahrscheinlich zugrundeliegende arbeitsinduzierte Aktivierung der Pyruvatdehydrogenase, im Erschöpfungszustand die Glykolysebeschleunigung überdauert, wäre das erst im späteren Perfusionsverlauf zu beobachtende Sistieren der Lactatbildung erklärbar. Weiterhin könnte als Ursache der beschriebenen Aufnahmekinetik von Lactat bzw. Pyruvat noch folgender Mechanismus diskutiert werden:

Die Skelettmuskulatur ist nicht homogen aufgebaut, sondern enthält drei Faseranteile mit unterschiedlicher metabolischer und mechanischer Aktivität.- Zur Nomenklatur siehe Holloszy und Booth (77), Ariano und Mitarbeiter (108), Peter und Mitarbeiter (118), Mostofi (97).-
Bei den Nagetieren besitzen die sogenannten fast-twitch-glycolytic-fibers (FG) hohe glykolytische und glykogenolytische Aktivität bei geringer respiratorischer Kapazität; diese Fasern neigen deshalb zu Lactatbildung und schneller Entleerung der Glykogendepots. Fast-twitch-oxidative-glycolytic-fibers (FOG) besitzen eine relativ hohe glykolytische und respiratorische Kapazität, bilden deshalb weniger stark Lactat und verlieren langsamer Glykogen. Slow-twitch-oxidative-fibers (SO) schließlich weisen eine größere respiratorische als glykolytische Kapazität auf, auch unter Belastung tritt ein Glykogenverlust erst spät ein (79). Man vermutet, daß die FG-Fasern besonders initial bei der Muskelaktion aktiv sind, dann in ihrer Aktivität zurücktreten und oberhalb einer Belastungsgrenze, die 60 - 80 % der Maximalleistung beträgt, reaktiviert werden (22,79). Aus diesem Grunde sind nur in den genannten Bereichen der Belastung deutliche Anstiege der Blutlactatspiegel nachzuweisen (17,22,78, S.13).

In diesem Zusammenhang wäre nun zu diskutieren, daß die Muskelanteile mit hoher glykolytischer Aktivität nach Erschöpfungsversuchen zunächst noch Lactat bilden bzw. akkumuliertes Lactat ausschleusen (die Lactatkonzentration im Musculus gastrocnemius nach erschöpfender Arbeit beträgt ca. 11,0 µMol/ml Zellwasser), dann aber allmählich zur Wiederauffüllung ihrer Glykogendepots übergehen. In Verbindung mit der

dadurch stärker ins Gewicht fallenden Lactatoxidation von Fasern mit hoher respiratorischer Kapazität könnte sich dann die typische Kurve der Lactatfreisetzung ergeben haben. Daß gleichzeitig neben der Produktion im Skelettmuskel eine Oxidation von Lactat abläuft, bewiesen Versuche mit markiertem Lactat von Berger (38), Jorfeldt (22) und Akira/Omachi (24). Damit erscheint es möglich, daß die summarische Verminderung der Lactatproduktion in den Erschöpfungsversuchen zustande kommt einmal durch die in einem Teil der Muskelfasern abnehmende Bildung, zum anderen durch eine in einem anderen Teil noch fortbestehende Oxidation von Lactat, das gar nicht erst in der Zirkulation erscheint.

Eine beschleunigte Reutilisation von Lactat unter muskulärer Aktivität wurde wiederholt festgestellt: Mehrere Autoren berichten über ein schnelleres Wiederabsinken der Blutlactatspiegel beim Menschen nach erschöpfender Belastung, wenn in der Erholungsperiode weiterhin submaximale Arbeit geleistet wurde (66,68). Umgekehrt führte erschöpfende Ergometerbelastung aus dem Ruhezustand heraus zu stärkerer Lactatbildung als nach vorheriger sportlicher Betätigung (18). Hirche und Mitarbeiter schlossen bei in vitro-Stimulationsversuchen aus einem sekundären intrazellulären Konzentrationsabfall von Lactat, der schneller erfolgte, als es durch die Abgabe an das Blut erklärt werden konnte, auf eine verbesserte "Lactatutilisation" (29). Dieses Verhalten ist erklärbar wiederum durch die schon zitierte Aktivierung der Pyruvatdehydrogenase als Folge von Muskeltätigkeit (43,44).
Weiterhin mag aber auch die unterschiedliche Rekrutierung der Muskelfasern mit verschiedener Stoffwechselcharakteristik, die durch Versuche von Kugelberg und Edström wahrscheinlich gemacht wurde (78, S. 13) und auf die sich auch andere Autoren beziehen (22,77,79), von großer Bedeutung sein: Nach Lactatfreisetzung bei beginnender oder sich dem Maximalwert nähernder Muskeltätigkeit durch Aktivierung der FG-Fasern könnte durch überwiegende mechanische und biochemische Aktivität von FOG- und SO-Fasern wieder Lactat oxidiert werden.

Die verbesserte Lactatverwertung nach Arbeitsbelastung deutet sich in unseren Perfusionen mit 6 mMol/l Lactatzusatz nach Erschöpfung zwar an,

zeigt aber keine Signifikanz. Eine in dieser Versuchsreihe weniger ausgeprägte Pyruvatreutilisation, als sie bei gleicher Lactatzugabe ohne Erschöpfung vorkam, könnte auf eine während der gesamten Perfusion noch vermehrte glykolytische Pyruvatbildung zurückzuführen sein.

Eine weitere, aber ebenfalls nicht statistisch gesicherte, Steigerung der Lactataufnahme ist bei der trainierten Muskulatur zu verzeichnen. Daß bei trainierten Tieren offenbar eine "Ökonomisierung" des Energiestoffwechsels eintritt, zeigt sich in der Tendenz zu geringerer Glucoseutilisation und der etwas stärkeren Wiederaufnahme von Pyruvat am Perfusionsende. In beiden Versuchsreihen, die nach Erschöpfung unter externer Lactatbelastung mit 6 mMol/l durchgeführt wurden, ist der Nachweis eines klaren Effektes von muskulärer Aktivität und Training auf die Lactatverwertung jedoch nicht gelungen. Dies mag mitbedingt sein dadurch, daß mit den Perfusionen erst nach Beendigung der Muskelstimulation begonnen wurde, Stimulationseffekte somit sicher nur noch bedingt zu beobachten waren; weiterhin ist auch die höhere Belastung vor der Perfusion mit anzunehmenden höheren intrazellulären Lactatgehalten zu berücksichtigen.

Andere Versuche des Instituts, bei denen die Muskelstimulation während des zweiten Perfusionsdrittels erfolgte, zeigen klarere Befunde (39): Bei Perfusion mit Standardmedium sind während der Belastung und in der darauffolgenden Erholungsperiode von zwanzigminütiger Dauer Glucoseaufnahme und Lactatproduktion durch die trainierte Muskulatur signifikant vermindert. Für eine Anpassung der Pyruvatdehydrogenaseaktivität an den erhöhten oxidativen Bedarf während des Ausdauertrainings spricht, daß bei verringerter Pyruvatfreisetzung in der Erholungsperiode dem Perfusat verstärkt Lactat entzogen wird.

Daß im übrigen eine Verbesserung des oxidativen Stoffwechsels in der trainierten Muskulatur gegeben ist, legen Untersuchungen über zelluläre Ultrastruktur und Enzymsysteme nahe. Molé (75) und Holloszy (74,77,78, S.51) zeigten an der Rattenmuskulatur nach Durchführung eines Trainingsprogramms eine von Dauer und Intensität des Trainings abhängige Steigerung der Oxidationskapazität für Pyruvat und freie Fettsäuren, verbunden mit einer vermehrten Enzymaktivität in Citratcyclus und Atmungskette. Diese Veränderungen waren begleitet von einer

Zunahme des Proteingehaltes sowie der Größe und Anzahl der Mitochondrien (77,78, S.51 und S.69). Bestätigt werden die Befunde für den menschlichen Muskel durch Morgan und Mitarbeiter (78, S.87) und Gollnick und Mitarbeiter (76). Auf einen beschleunigten Transport von zytoplasmatischen Reduktionsäquivalenten in die Mitochondrien beim trainierten Rattenmuskel weisen größere Aktivitäten der an der Malat-Aspartat-Schleuse beteiligten Enzyme hin (77). Außerdem wurde von Karlsson und Mitarbeitern (59) am menschlichen und von York und Mitarbeitern (60) am Nagetiermuskel eine trainingsinduzierte Minderung der totalen LDH-Aktivität bei relativer Zunahme der schon durch geringe Pyruvatkonzentrationen hemmbaren Isoenzymfraktion H festgestellt. Eine Aktivitätssteigerung glykolytischer Schlüsselenzyme durch Training wurde übereinstimmend nicht gemessen.

Die geschilderten Veränderungen lassen folgern, daß der trainierte Muskel wegen der Möglichkeit des größeren Pyruvatdurchsatzes weniger zur Lactatbildung bzw. bei Lactatangebot mehr zu dessen Oxidation neigt. Die gleichzeitige Erleichterung der oxidativen Phosphorylierung kann ihrerseits über eine geringere cytoplasmatische ADP-Konzentration zur Verringerung der Glykolyserate führen (74, 103,104). Wegen der resultierenden Abnahme des zytoplasmatischen $NADH+H^+$-Gehaltes, der noch durch die verbesserte Einschleusung von Wasserstoff in die Mitochondrien weiter verringert werden kann, fände die Tendenz zu verminderter Lactatbildung Unterstützung. Diese Phänomene könnten ihren Niederschlag gefunden haben in der angedeutet verminderten Glucoseaufnahme sowie der verstärkten Lactatextraktion und Pyruvatreutilisation bei der Versuchsreihe mit trainierter Muskulatur (II,F).

Bei den bereits erwähnten Untersuchungen des Instituts mit Stimulation während der Perfusion konnte eine vermehrte Alaninbildung während der Muskelarbeit nicht festgestellt werden (39). Entsprechend berichten Lowenstein und Goodman über eine unveränderte oder gar verminderte Alaninfreisetzung des perfundierten Rattenhinterbeins unter Muskelstimulation (84). Im Sinne einer Bestätigung dieser Befunde findet sich bei den Perfusionsreihen nach muskulärer Erschöpfung eine verminderte Alaninproduktion durch den Hinterkörper.

Die Erklärung kann im vorliegenden Falle vordergründig in einem "insulinähnlichen Membraneffekt" der Muskelarbeit gesehen werden, wie er schon für die Glucoseaufnahme gefordert wurde (34,38). Ausgehend von einer durch Arbeit verbesserten muskulären Oxidation von Lactat und Pyruvat könnte außerdem die Notwendigkeit des Aminosäurenkatabolismus zur Energiebereitstellung als vermindert angenommen werden. Da unter diesen Umständen die Verfügbarkeit von Aminogruppen für die Transaminierung von Pyruvat abnimmt, kann auch bei erhöhten zellulären Pyruvatspiegeln eine geringere Alaninbildung resultieren.

Schließlich ist für diese Situation noch die "Umschaltung" des Aminosäurenstoffwechsels auf eine vermehrte Einschleusung von Aminogruppen in den Purin-Nucleotid-Cyclus (88) zu diskutieren: Lowenstein und Goodman sowie Meyer und Terjung stellten während der Muskelarbeit eine vermehrte intrazelluläre Akkumulation von Inosin-5-Monophosphat (IMP) fest, welches unter Freiwerden von Ammoniak durch das Enyzm Adenylatdesaminase aus Adenosin-5-Monophosphat (AMP) gebildet wird (84,85). Folge des AMP-Verbrauchs ist eine Förderung der Bildung von ATP in der Adenylatkinasereaktion in Zuständen mit erhöhtem Bedarf an energiereichen Phosphaten (AMP+ATP⇌2 ADP) (85). In einem zweiten Reaktionsschritt erfolgt dann, vorwiegend nach Beendigung der Muskelarbeit, die Resynthese von AMP und damit die Wiederauffüllung des Adeninnucleotidpools durch Übertragung der Aminogruppe von Aspartat auf IMP, wobei als Intermediärprodukt Adenylosuccinat entsteht. Aspartat wiederum wird gebildet in der Aspartataminotransferasereaktion durch Übertragung der aus dem Aminosäurekatabolismus stammenden und im Glutamat gesammelten Aminogruppen auf Oxalacetat.

Unter Berücksichtigung dieser Zusammenhänge kann die verminderte Alaninfreisetzung nach akuter muskulärer Erschöpfung verstanden werden als Folge einer verminderten Verfügbarkeit von Aminogruppen für die Transaminierung von Pyruvat durch vermehrte Bildung von Aspartat und konsekutive Einschleusung der Aminogruppen in den zweiten Reaktionsteil des Purin-Nucleotid-Cyclus in der Erholungsphase der Muskulatur.

Die geringere Bedeutung dieses Mechanismus, verbunden mit einer Zunahme der Aktivität von Alaninaminotransferase im trainierten Muskel

(75,77) könnte ein Grund dafür sein, daß die trainierten Tiere bei Lactatperfusion im Vergleich zu untrainierten wieder etwas mehr Alanin bilden. Einen Vorteil sehen die genannten Autoren in einer möglichen Beschleunigung der Entfernung von muskulär entstandenem Lactat, wobei das gebildete Alanin ohne Belastung des Säure-Basen-Haushalts der hepatischen Gluconeogenese zugeführt werden könnte. Vermehrte anaplerotische Bereitstellung von a-Ketoglutarat aus der Transaminierungsreaktion für die Wiederauffüllung des Citratcyclus wäre ein weiterer Effekt, der in Einklang stünde mit der erhöhten Rate des oxidativen Stoffwechsels.

VI. ZUSAMMENFASSUNG UND ABSCHLIESSENDE WERTUNG

Mit Hilfe der isolierten Hinterkörperperfusion der Ratte wurde die Bedeutung der Muskulatur für die Regulation des Blutlactatspiegels untersucht. Neben autoregulativen, substratabhängigen Momenten fanden die Veränderungen besondere Berücksichtigung, welche sich nach erschöpfender Muskelarbeit ergaben.

Bei artefizieller Anhebung des Lactatspiegels im Perfusionsmedium über 4 mMol/l zeigte sich ein Übergang von der ansonsten für das System typischen Lactatproduktion zur Lactataufnahme. Parallel dazu verlief bei externer Lactatbelastung eine initiale Pyruvatabgabe mit nachfolgender Reutilisation, während in Kontrollperfusionen mit normalem Lactatgehalt eine kontinuierliche Pyruvatextraktion erfolgte. Als Grund für dieses Verhalten kann eine Substrataktivierung der Pyruvatdehydrogenase angesehen werden. Die bei höheren Lactatspiegeln festzustellende Mehrproduktion von Alanin war, gemessen an den genannten Veränderungen, gering. Eine quantitativ relevante Glykogenmehrsynthese unter Bedingungen der Lactatutilisation wurde nicht gemessen.
Nach Muskelarbeit war die Glucoseaufnahme während der gesamten Perfusionsdauer deutlich erhöht. Eine Verbesserung der Lactatutilisation in der Erholungsphase nach erschöpfender Belastung deutete sich in den Hinterkörperperfusionen trainierter und untrainierter Tiere an, besaß aber keine Signifikanz. Die Alaninbildung war unter denselben Bedingungen vermindert.

Insgesamt läßt sich feststellen, daß die Muskulatur für die Regulierung der Blutlactatkonzentration von Bedeutung ist, wenn diese einen kritischen Wert von etwa 4 mMol/l übersteigt. Diese "Ventilfunktion" gilt sowohl für den Ruhezustand, als auch für die Erholungsphase nach Belastung. Was die Verflechtung von Kohlenhydrat- und Proteinstoffwechsel angeht, zeigen die unter verschiedenen Bedingungen gemessenen Alaninproduktionsraten, daß Änderungen des Aminosäurenstoffwechsels offenbar eine weitaus größere Bedeutung zukommt als dem Angebot von Intermediärprodukten des Glucosestoffwechsels im Sinne eines Glucose-Alanin-Cyclus.

VII. DANKSAGUNG

Bei Herrn Professor Dr. Wolfgang Staib bedanke ich mich herzlich für seine Bereitschaft, mir Thema und Arbeitsplatz in seinem Institut zur Verfügung zu stellen sowie für sein großes Interesse an meinen Untersuchungen.

Ferner bin ich zu großem Dank verpflichtet Herrn Dr. Martin Schwenen, der mich in mein Arbeitsgebiet einführte und mir bei der Präparation der Versuchstiere sowie den Bestimmungen der Substrate wertvolle Hilfe leistete. Ich verdanke ihm unentbehrliche Anregungen für die Planung und Durchführung der Versuche und immer neue Denkanstöße bei der Diskussion der Versuchsergebnisse.

Mein ganz besonderer Dank gilt auch Frau Grete Hannemann, deren unermüdliche und äußerst gewissenhafte Mitarbeit mir die Durchführung meiner Aufgabe sehr erleichterte.

VIII. LITERATUR

1.) Embden, G., Lehnartz, E., Hentschel, H.: Der zeitliche Verlauf der Milchsäurebildung bei der Muskelkontraktion.
Z. physiol. Chem. 165 (1927), 255, zitiert aus 23.)

2.) Meyerhof, O.: Die chemischen Vorgänge im Muskel.
Verl. Julius Springer, Berlin (1930), zit. aus 22.)

3.) Meyerhof, O.: Der zeitliche Verlauf der Milchsäurebildung bei Muskelkontraktion.
Klin. Z. 10 (1931), 214, zit. aus 23.)

4.) Bang, O.: The lactate content of the blood during and after muscular exercise in man.
Scand. Arch. Physiol. 10 (1936), 51, zit. aus 23.)

5.) Astrand, I.: Aerobic work capacity in men and women with special reference to age.
Acta physiol. scand. 49, Suppl. 169 (1960), 14

6.) Margaria, R., Ceretelli, P., Di Prampero, P.E., Massari, C., Torelli, G.: Kinetics and mechanism of oxygen debt contraction in man.
J. Appl. Physiol. 18 (1963), 371.

7.) Karlsson, J., Diamant, B., Saltin, B.: Muscle metabolites during submaximal and maximal exercise in man.
Scand. J. clin Lab. Invest. 26 (1971), 385

8.) Knuttgen, H.G.: Oxygen debt after submaximal physical exercise.
J. Appl. Physiol. 29 (1970), 651

9.) Wahren, J., Hagenfeldt, L.: Human forearm muscle metabolism during exercise. I: Circulatory adaptation to prolonged forearm exercise.
Scand. J. clin Lab. Invest. 21 (1968), 257

10.) Dawson, C.A., Nadel, E.R., Horvath, S.M.: Arterial blood and muscle lactates during swimming in the rat.
J. Appl. Physiol. 30 (1971), 322

11.) Brooks, G.A., Brauner, K.E., Cassens, R.G.: Glycogen synthesis and metabolism of lactic acid after exercise.
Am. J. Physiol. 224 (1973), 1162

12.) Stainsby, W.N., Welch, H.G.: Lactate metabolism of contracting dog skeletal muscle in situ.
Am. J. Physiol. 211 (1966), 177

13.) Keul, J., Doll., E., Keppler, D.: The substrate supply of the human skeletal muscle at rest, during and after work.
Experientia 23 (1967), 974

14.) Keul, J., Doll, E., Keppler, D.: Zum Stoffwechsel des Skelettmuskels. I. Glucose, Lactat, Pyruvat und freie Fettsäuren im arteriellen und venösen Blut der arbeitenden Muskulatur bei Hochleistungssportlern.
Pflügers Arch. 301 (1968), 198

15.) Diamant, B., Karlsson, J., Saltin, B.: Muscle tissue lactate after maximal exercise in man.
Acta physiol. scand. 72 (1968), 383

16.) Diamant, B., Karlsson, J., Saltin, B., Agnevik, G.: Oxygen debt, lactate in blood and muscle tissue during maximal exercise in man. In: "Biochemistry of exercise. Medicine and sport."
Vol. 3, Verl. S. Karger, Basel, New York (1969), 62

17.) Knuttgen, H.G., Saltin, B.: Muscle metabolites and oxygen uptake in short-term submaximal exercise in man.
J. Appl. Physiol. 32 (1972), 32

18.) Astrand, P.O., Hallbäck, I., Hedman, R., Saltin, B.: Blood lactates after prolonged severe exercise.
J. Appl. Physiol. 18 (1963), 619

19.) Sacks, J., Sacks, W.C., Shaw, R.J.: Carbohydrate and phosphorus changes in prolonged muscular contractions.
Am. J. Physol. 118 (1937), 232

20.) Kramer, K., Quensel, W., Schäfer, K.E.: Untersuchungen über den Muskelstoffwechsel des Warmblüters. IV. Beziehungen zwischen Sauerstoffaufnahme und Milchsäureabgabe des Muskels während der Tätigkeit.
Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 241 (1939), 730

21.) Coston, J.C., Saltin, B., Skinner, N.S., Vestagh, G.: Glucose uptake at rest and during contraction in isolated dog skeletal muscle.
Acta physiol. scand. 81 (1971), 124

22.) Jorfeldt, L.: Metabolism of L (+)-lactate in human skeletal muscle during exercise.
Acta physol. scand. Suppl. 338 (1970)

23.) Keul, J., Doll, E., Keppler, D.: Energy metabolism of human muscle. In: "Medicine and sport." Vol. 7, Verl. S. Karger, Basel, New York (1972), 102

24.) Omachi, A., Lifson, N.: Metabolism of isotopic lactate by the isolated perfused dog gastrocnemius.
Am. J. Physiol. 185 (1956), 35

25.) Weil, R., Ho, P.P., Altszuler, N.: Effect of free fatty acids on metabolism of pyruvic and lactic acids.
Am. J. Physiol. 208 (1965), 887

26.) Hirche, H., Grün, D., Waller, W.: Utilization of carbohydrates and free fatty acids by the gastrocnemius of the dog during long lasting rhythmical exercise.
Pflügers Arch. 321 (1970), 121

27.) Dunn, R.B., Critz, J.B.: Uptake of lactate by dog skeletal muscle in vivo and the effect of free fatty acids.
Am. J. Physiol. 229 (1975), 255

28.) Graham, T.E., Sinclair, D.G., Chapler, C.K.: Metabolic intermediates and lactate diffusion in active dog skeletal muscle.
Am. J. Physiol. 231 (1976), 766

29.) Hirche, H., Wacker, U., Langohr, H.D.: Lactic acid formation in the working gastrocnemius of the dog.
Int. Z. Angew. Physiol. 30 (1971), 52

30.) Hirche, H., Bovenkamp, U., Busse, J., Hombach, B., Manthey, J.: Factors influencing lactic acid production in working skeletal muscle.
Scand. J. clin. lab. Invest., Suppl. 128, Vol. 31 (1973), 11

31.) Dunn, R.B., Critz, J.B.: Effect of circulating FFA on lactate productin by skeletal muscle during stimulation.
J. Appl. Physiol. 38 (1975), 801

32.) Ruderman, N.B., Houghton, C.R.S., Hems, R.: Evaluation of the isolated perfused rat hindquarter for the study of muscle metabolism.
Biochem J. 124 (1971), 639

33.) Ruderman, N.B.: Muscle amino acid metabolism and gluconeogenesis.
Ann. Rev. Med. 26 (1975), 245

34.) Berger, M., Hagg, S., Ruderman, N.B.: Glucose mtabolism in perfused skeletal muscle. Interaction of insulin and exercise on glucose uptake.
Biochem J. 146 (1975), 231

35.) Ruderman, N.B., Berger, M.: The formation of glutamine and alanine in skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 249 (1974), 5500

36.) Reimer, F., Löffler, G., Hennig, G., Wieland, O.H.: The influence of insulin on glucose and fatty acid metabolism in the isolated perfused rat hindquarter.
Hoppe-Seyler's Z. Physol. Chem. 356 (1975), 1055

37.) Thienhaus, R., Tharandt, L., Zais, U., Staib, W.: Einfluß von Glucocorticoiden auf die Freisetzung von Aminosäuren des perfundierten Hinterkörpers adrenalektomierter Ratten.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 356 (1975), 811

38.) Berger, M., Hagg, S.A., Goodman, M. N., Ruderman, N.B.: Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. Effects of starvation, diabetes, fatty acids, acetoacetate, insulin and exercise on glucose uptake and disposition.
Biochem. J. 158 (1976), 191

39.) Schwenen, M., Staib, W.: Tätigkeitsbericht Sonderforschungsbereich 113, Diabetesforschung, Universität Düsseldorf (1977), 196

40.) Garber, A.J., Karl, I.E., Kipnis, D.E.: Alanine and glutamine synethesis and release from skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 251 (1976), 826, 836

41.) Green, H.J., Houston, M.E.: Blood lactate response to continuous and intermittent running in the rat.
Pflügers Arch. 360 (1975), 283

42.) Odessey, R., Khairallah, E.A., Goldberg, A.L.: Origin and possible significance of alanine production by skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 249 (1974), 7623

43.) Hagg, S.A., Taylor, S.I., Ruderman, N.B.: Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. Pyruvate dehydrogenase activity in starvation, diabetes and exercise.
Biochem. J. 158 (1976), 203

44.) Hennig, G., Löffler, G., Wieland, H.O.: Active and inactive forms of pyruvatedehydrogenase in skeletal muscle as related to the metabolic and functional state of the muscle cell.
FEBS-Lett. 59 (1975), 142

45.) Siess, E., Wittmann, J., Wieland, H.O.: Interconversion and kinetic properties of pyruvate dehydrogenase from brain.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 352 (1971), 447

46.) Wieland, O.H., Weiss, L., Löffler, G., Brunner, I., Bard, S.: On the mechanism of insulin action on pyruvate dehydrogenase interconversion in adipose tissue. In: "Metabolic interconversion of enzymes", herausgegeben von Fischer, E.H., Krebs, E.G., Neurath, H., Stadtman, E.R., Springer Verl., Berlin, Heidelberg, New York (1973), 117

47.) Weiss, L., Löffler, G., Wieland, O.H.: Regulation by insulin of adipose tissue pyruvate dehydrogenase.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 355 (1974), 363

48.) Wieland, O.H., v. Jagow-Westermann, B.: ATP-dependent inactivation of heart muscle pyruvate dehydrogenase and reactivation by Mg^{++}.
FEBS-Lett. 3 (1969), 271

49.) Wieland, O.H., Patzelt, C., Löffler, G.: Active and inactive forms of pyruvate dehydrogenase in rat liver.
Eur. J. Biochem. 26 (1972), 426

50.) Wieland, O.H., Portenhauser, R.: Regulation of pyruvate-dehydrogenase interconversion in rat-liver mitochondria as related to the phosphorylation state of intramitochondrial adenine nucletides.
Eur. J. Biochem. 45 (1974), 577

51.) Siess, E.A., Wieland, O.H.: Regulation of pyruvate dehydrogenase interconversion in isolated hapatocytes by the mitochondrial ATP/ADP ratio.
FEBS-Lett. 52 (1975), 226

52.) Siess, E.A., Wieland, O.H.: Phosphorylation state of mitochondrial and cytosolic adenine nucleotides and of pyruvate dehydrogenase in isolated rat liver cells.
Biochem. J. 156 (1975), 91

53.) Schulze Wischeler, B., Müller-Ruchholtz, E.R., Reinauer, H.: Einfluß von Herzarbeit und Substratangebot auf die Regulation der Pyruvatdehydrogenase-Aktivität an isolierten Meerschweinchenherzen.
Pflügers Arch. 355 (1975), 27

54.) Reinauer, H., Müller-Ruchholtz, E.R.: Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex in perfused hearts of guinea pigs.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 355 (1974), 1241

55.) Kerbey, A.L., Randle, P.J., Cooper, R.H., Whitehouse, S., Pask, H.T., Denton, R.M.: Regulation of pyruvate dehydrogenase in rat heart.
Biochem.J. 154 (1976), 327

56.) Denton, R.M., Randle, P.J., Bridges, B.J., Cooper, R.H., Pask, H.T., Severson, D.L., Stansbie, D., Whitehouse, S.: Regulation of mammalian pyruvate dehydrogenase.
Mol. Cell. Biochem. 9 (1975), 27

57.) Karlsson, J., Diamant, B., Saltin, B.: Lactate dehydrogenase activity in muscle after prolonged severe exercise in man.
J. Appl. Physiol. 25 (1968), 88

58.) Karlsson, J., Hultèn, B., Sjödin, B.: Substrate activation and product inhibition of LDH activity in human skeletal muscle.
Acta physiol. scand. 92 (1974), 21

59.) Karlsson, J., Sjödin, B., Thorstensson, A., Hultèn, B., Frith, K.: LDH Isozymes in skeletal muscles of endurance and strength trained athletes.
Acta physiol. scand. 93 (1975), 150

60.) York, J.W., Oscai, L.B., Penney, D.G.: Alterations in skeletal muscle lactate dehydrogenase isozymes following exercise training.
Biochem Biophys. Res. Comm. 61 (1974), 1387

61.) Bendall, J.R., Taylor, A.A.: The Meyerhof quotient and the synthesis of glycogen from lactate in frog and rabbit muscle.
Biochem J. 118 (1970), 887

62.) Bär, U., Blan chaer, M.C.: Glycogen and CO_2 production from glucose and lactate by red and white skeletal muscle.
Am. J. Physiol. 209 (1965), 905

63.) Hermansen, L., Vaage, O.: Lactate disappearance and glycogen synthesis in human muscle after maximal exercise.
Am. J. Physiol. 233 (1977), E 422

64.) Meyerhof, O.: Über die Energieumwandlungen im Muskel. II. Das Schicksal der Milchsäure in der Erholungsperiode des Muskels.
Pflügers Arch. 182 (1920), 284

65.) Karlsson, J., Ollander, B.: Muscle metabolites with exhaustive static exercise of different duration.
Acta physiol. scand. 86 (1972), 309

66.) Gisolfi, C., Robinson, S., Turrell, E.S.: Effects of aerobic work performed during recovery from exhausting work.
J. Appl. Physiol. 21 (1966), 1767

67.) Olsen, C., Petersen, E.S.: The lactate/pyruvate ratio in muscular work and following injection of lactate in man.
Pflügers Arch. 342 (1973), 359

68.) Hermansen, L., Stensvold, I.: Production and removal of lactate during exercise in man.
Acta physiol. scand. 86 (1972), 191

69.) Kaijser, L.: Lactate production and maximal muscle respiration.
Scand. J. clin. Lab. Invest. Suppl. 128, Vol. 31 (1973), 17

70.) Hubbard, J.L.: The effect of exercise on lactate metabolism.
J. Physol. 231 (1973), 1

71.) Karlsson, J., Bonde-Petersen, F., Hendriksson, J., Knuttgen, H.G.: Effects of previous exercise with arms or legs on metabolism and performance in exhaustive exercise.
J. Appl. Physiol. 38 (1975), 763

72.) Pozefsky, T., Tancredi, R.G.: Effects of intrabrachial arterial infusion of pyruvate on forearm tissue metabolism.
J. Clin. Invest. 51 (1972), 2359

73.) Felig, P., Wahren, J.: Amino acid metabolism in exercising man.
J. Clin Invest. 50 (1971), 2703

74.) Holloszy, J.O.: Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 242 (1967), 2278

75.) Molè, P.A., Baldwin, K.M., Terjung, R.L., Holloszy, J.O.: Enzymatic pathways of pyruvate metabolism in skeletal muscle: adaptations to exercise.
Am J Physiol. 224 (1973), 50

76.) Gollnick, P.D., Armstrong, R.B., Saltin, B., Saubert, C.W., Sembrowich, W.,L., Shepherd, R.E.: Effect of training on enzyme activity and fiber composition of human skeletal muscle.
J. Appl. Physiol. 34 (1973), 107

77.) Holloszy, J.O., Booth, F.W.: Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle.
Ann. Rev. Physiol. 38 (1976), 273

78.) Pernow, B., Saltin, B.: Muscle metabolism during exercise.
Planum Press, New York, London (1971)

79.) Armstrong, R.B., Saubert, C.W., Sembrowich, W.L., Shepherd, R.E., Gollnick, P.D.: Glycogen depletion in rat skeletal muscle fibers at different intensities and duration of exercise.
Pflügers Arch. 352 (1974), 243

80.) Exton, J.H., Corbin, J.G., Harper,S.C.: Control of gluconeogenesis in liver.
J. Biol. Chem. 247 (1972), 4996

81.) Freminet, A., Poyart, C.: Lactate-glucose interrelations, glucose recycling and the Cori cycle in normal fed rats.
Pflügers Arch. 361 (1975), 25

82.) Ross, B.D., Hems, R., Krebs, H.A.: The rate of gluconeogenesis from various precursors in the perfused rat liver
Biochem. J. 102 (1967), 942

83.) Pearce, F.J., Connett, R.J.: Effect of lactate and palmitate on substrate utilization of isolated rat soleus.

84.) Lowenstein, J.M., Goodman, M.N.: The purine nucleotide cycle in skeletal muscle.
Federation Proc. 37 (1978), 2308

85.) Meyer, R.A., Terjung, R.L.: Differences in ammonia and adenylate metabolism in contracting fast and slow muscle.
Am. J. Physiol. 237 (1979), C 111

86.) Cori, C.F.: Mammalian carbohydrate metabolism.
Physiol. Rev. 11 (1931), 143

87.) Reichard, G.A., Maury, N.F., Hochella, N.J. Patterson, A.L., Weinhouse, S.: Quantitative estimation of the Cori cycle in the human.
J. Biol. Chem. 238 (1963), 495

88.) Harper, H.A., Löffler, G., Petrides, P.E., Weiss, L.: Physiologische Chemie, Verlag Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1975), 391

89.) Vogell, W.: In: "Funktionelle und morphologische Organisation der Zelle", herausgegeben von Karlson, P., Verlag Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1963).

90.) Strohfeldt, P.: Das isoliert perfundierte Hinterbein der Ratte als Modell zur Untersuchung des Muskelstoffwechsels.
Res. Exp. Med. 162 (1974), 7

91.) Jefferson., L.S.: Hormone action p.d. isolated cells, tissues and organ systems. In: "Methods in enzymology 39 ", herausgegeben von Hardman, J.G., O'Malley, B.W., New York;Academic Press (1975), 73

92.) Kühn-Velten, N.: Regulationsmechanismen am insulinfrei perfundierten Hinterkörper der Ratte: Stoffwechseländerungen durch unterschiedlich hohe Glucoseangebote sowie durch Adrenalektomie und einmalige Betamethasonapplikation in vivo.
Diss. Med. Fak. Univ. Düsseldorf (1978).

93.) Staschok, W.: Zeitliche Entwicklung, Insulin- und Actinomycin-Beeinflussung der akuten Glucocorticoidwirkungen am isoliert perfundierten Hinterkörper adrenalektomierter Ratten.
Diss. Med. Fak. Universität Düsseldorf (1978)

94.) Bergström, J., Hultman, E.: Muscle glycogen synthesis after exercise: an enhancing factor localized to the muscle cells in man.
Nature 210 (1966), 309

95.) Holloszy, J.O., Narahara, H.T.: Studies of tissue permeability. X. Changes in permeability to 3-methylglucose associated with contraction of isolated frog muscle.
J. Biol. Chem. 240 (1975), 3493

96.) Arvill, A.: Relationship between the effects of contraction and insulin on the metabolism of the isolated levator ani muscle of the rat.
Acta endocr. 56 (1967), Suppl. 122, 27

97.) Pearson, C.M., Mostofi, F.K. (Hrsg.): The striated muscle.
The Williams and Wilkins Company, Baltimore (1973), 7

98.) Margaria, R., Edwards, H.T., Dill, D.B.: The possible mechanisms of contracting and paying the oxygen debt and the role of lactic acid in muscular contraction.
Am.J.Physiol. 106 (1933), 689

99.) Hohorst, H.J., Kreutz, F.H. Bücher, T.: Über Metabolitgehalte und Metabolit-Konzentrationen in der Leber der Ratte.
Biochem. Z. 332 (1959), 18

100.) Bücher, T., Klingenberg, M.: Wege des Wasserstoffs in der lebendigen Organisation.
Angew. Chem. 70 (1958), 552

101.) Ruderman, N.B., Lund, P.: Amino acid metabolism in skeletal muscle. Regulation of glutamine and alanine release in the perfused rat hindquarter.
Isr. J. Med. Sci. 8 (1972), 295

102.) Felig, P.: The glucose-alanine cycle.
Metabolism 22 (1973), 179

103.) Sacktor, B., Hurlbut, E.C.: Regulation of metabolism in working muscle in vivo.
J. Biol. Chem. 241 (1966), 632

104.) Uyeda, K., Racker, E.: Regulatory mechanisms in carbohydrate metabolism.
J. Biol. Chem. 240 (1965), 4689

105.) Crabtree, B., Higgins, S.J., Newsholme, E.A.: The activities of pyruvate carboxylase, phosphoenolpyruvate carboxylase and fructose diphosphatase in muscles from vertebrates and invertebrates.
Biochem J. 130 (1972), 391

106.) Opie, L.H., Newsholme, E.A.: The activities of fructose-diphosphatase, phosphofructokinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in white muscle and red muscle.
Biochem. J. 103 (1967), 391

107.) McLane, J.A., Holloszy, J.O.: Glycogen synthesis from lactate in the three types of skeletal muscle.
J. Biol. Chem. 254 (1979), 6548

108.) Ariano, M.A., Armstrong, R.B., Edgerton, V.R.: Hindlimb muscle fiber populations of five mammals.
J. Histochem. Cytochem. 21 (1973), 51

109.) Williamson, D.H.: L-Alanin, Bestimmung mitAlanin-Dehydrogenase.
In: "Methoden der enzymatischen Analyse", wie 115.), 1724

110.) Seifter, S., Dayton, S., Novic, B., Muntwyler, E.: The estimation of glycogen with the anthrone reagent.
Arch. Biochem. Biophys. 25 (1950), 191

111.) Kröner, H., Staib, W.: Cortisonwirkungen auf den Protein- und Energiestoffwechsel in der Peripherie.
Acta endocr. 59 (1968), 193

112.) Documenta Geigy, wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage, Ciba-Geigy-Ltd., Basel (1968), 34

113.) Fell, R.D., McLane, J.A., Winder, W.W., Holloszy, J.O.: Preferential resynthesis of muscle glycogen in fasting rats after exhausting exercise.
Am. J. Physiol. 238 (1980), R328

114.) Werner, W., Rey, M.G., Wielinger, H.: Über die Eigenschaften des neuen Chromogens für die Blutglucosebestimmung nach der GOD/POD-Methode.
Z. analyt. Chem. 252 (1970), 244

115.) Gutmann, I., Wahlefeld, A.W.: (L (+)-Lactat, Bestimmung mit LDH und NAD. In: "Methoden der enzymatischen Analyse," 3. Aufl., Bd. 2, herausgegeben von Bergmeyer, H.U., Verlag Chemie, Weinheim (1974), 1510

116.) Czok, R., Lamprecht, W.: Pyruvat, Phosphoenolpyruvat und D-Glycerat-3-Phosphat. In: "Methoden der enzymatischen Analyse", wie 115.), 1491

117.) Holloszy, J.O., Booth, F.W., Winder, W.W., Fitts, R.H.: Biochemical adaptation of skeletal muscle to prolonged physical exercise. In: Metabolic adaptation to prolonged physical exercise, herausgegeben von Howard, H., Poortsmans, J.R., Birkhauser Verl., Basel (1975), 488

118.) Peter, J.B., Barnard, R.J., Edgerton, K.R., Gillespie, C.A., Stempel, K.E.: Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits.
Biochemistry 11 (1972), 2627

Tabelle 1: Kontrollparameter der Perfusionen (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

		n	t (min)	Durchfluß (ml/min)	pH-art.	pO_2-art. (Torr)	Trockengew. (%)
I	(A) Standardpersusion	13	0	14,3 ± 0,7	± 7,356 ± 0,014	461,4 ± 19,2	
			60	13,9 ± 0,8	± 7,359 0,019	368,5 ± 14,9	25,56 ± 0,66
	(B) 3 mM Lactatzusatz	5	0	17,8 ± 0,5	± 7,351 ± 0,019	470,6 ± 16,1	
			60	16,6 ± 1,0	± 7,310 ± 0,010	322,8 ± 24,1	24,oo ± 0,17
	(C) 6 mM Lactatzusatz	6	0	16,9 ± 0,8	± 7,398 ± 0,020	434,8 ± 20,3	
			60	15,3 ± 1,2	± 7,377 0,015	+343,0 - 16,2	24,38 ± 0,28
II	(D) muskuläre Erschöpfung	5	0	16,2 ± 1,6	± 7,356 ± 0,021	447,7 ± 21,5	
			60	16,6 ± 0,4	± 7,320 ± 0,020	328,7 ± 20,1	24,34 ± 0,15
	(E) 6 mM Lactatzusatz, muskuläre Erschöpfung	6	0	17,9 ± 0,7	± 7,356 ± 0,012	441,5 ± 17,7	
			60	16,6 ± 0,7	± 7,351 ± 0,023	358,7 ± 18,9	24,93 ± 0,45
	(F) 6 mM Lactatzusatz, musk. Erschöpfung nach Ausdauertraining	5	0	19,0 ± 1,5	± 7,3o4 ± 0,016	426,0 ± 17,7	
			60	17,0 ± 2,2	± 7,322 ± 0,024	334,7 ± 33,1	26,33 ± 2,21

Tabelle 2: Metabolitveränderungen kumulativ in den ersten 20 Perfusionsminuten (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

		n	Glucose (µmol/30g)	Lactat (µmol/30g)	Pyruvat (µmol/30g)	Alanin (µmol/30g)
I	(A) Standardperfusion	13	-47,52 ± 3,65	+28,35 ± 2,63	-2,16 ± 0,48	+9,62 ± 0,49
	(B) 3 mM Lactatzusatz	5	-36,89 ± 8,28	+0,64 ± 3,31	+5,02 ± 1,49	+12,52 ± 1,58
	(C) 6 mM Lactatzusatz	6	-50,93 ± 8,57	-28,79 ± 4,02	+10,43 ± 1,44	+12,53 ± 1,11
II	(D) musk.Erschöpfung	5	-97,31 ± 17,53	+33,61 ± 6,82	+0,63 ± 1,64	+7,02 ± 0,68
	(E) 6 mM Lactatzusatz, musk.Erschöpfung	6	-107,48 ± 12,00	-10,81 ± 11,96	+11,66 ± 0,63	+7,26 ± 0,55
	(F) 6 mM Lactatzusatz, musk. Erschöpfung nach Training	5	-82,07 ± 4,09	-23,00 ± 13,15	+13,16 ± 1,78	+8,75 ± 0,68

Tabelle 1: Kontrollparamster der Perfusionen (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

		n	t (min)	Durchfluß (ml/min)	pH-art.	pO_2-art. (Torr)	Trockengew. (%)
I	(A) Standardpersusion	13	0	14,3 ± 0,7	± 7,356 0,014	461,4 ± 19,2	
			60	13,9 ± 0,8	± 7,359 0,019	368,5 ± 14,9	25,56 ± 0,66
	(B) 3 mM Lactatzusatz	5	0	17,8 ± 0,5	± 7,351 0,019	470,6 ± 16,1	
			60	16,6 ± 1,0	± 7,310 0,010	322,8 ± 24,1	24,oo ± 0,17
	(C) 6 mM Lactatzusatz	6	0	16,9 ± 0,8	± 7,398 0,020	434,8 ± 20,3	
			60	15,3 ± 1,2	± 7,377 0,015	+343,0 - 16,2	24,38 ± 0,28
II	(D) muskuläre Erschöpfung	5	0	16,2 ± 1,6	± 7,356 0,021	447,7 ± 21,5	
			60	16,6 ± 0,4	± 7,320 0,020	328,7 ± 20,1	24,34 ± 0,15
	(E) 6 mM Lactatzusatz, muskuläre Erschöpfung	6	0	17,9 ± 0,7	± 7,356 0,012	441,5 ± 17,7	
			60	16,6 ± 0,7	± 7,351 0,023	358,7 ± 18,9	24,93 ± 0,45
	(F) 6 mM Lactatzusatz, musk. Erschöpfung nach Ausdauertraining	5	0	19,0 ± 1,5	± 7,3o4 0,016	426,0 ± 17,7	
			60	17,0 ± 2,2	± 7,322 0,024	334,7 ± 33,1	26,33 ± 2,21

Tabelle 2: Metabolitveränderungen kumulativ in den ersten 20 Perfusionsminuten (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

		n	Glucose (µmol/30g)	Lactat (µmol/30g)	Pyruvat (µmol/30g)	Alanin (µmol/30g)
I	(A) Standardperfusion	13	-47,52 ± 3,65	+28,35 ± 2,63	-2,16 ± 0,48	+9,62 ± 0,49
	(B) 3 mM Lactatzusatz	5	-36,89 ± 8,28	+0,64 ± 3,31	+5,02 ± 1,49	+12,52 ± 1,58
	(C) 6 mM Lactatzusatz	6	-50,93 ± 8,57	-28,79 ± 4,02	+10,43 ± 1,44	+12,53 ± 1,11
II	(D) musk.Erschöpfung	5	-97,31 ± 17,53	+33,61 ± 6,82	+0,63 ± 1,64	+7,02 ± 0,68
	(E) 6 mM Lactatzusatz, musk.Erschöpfung	6	-107,48 ± 12,00	-10,81 ± 11,96	+11,66 ± 0,63	+7,26 ± 0,55
	(F) 6 mM Lactatzusatz, musk. Erschöpfung nach Training	5	-82,07 ± 4,09	-23,00 ± 13,15	+13,16 ± 1,78	+8,75 ± 0,68

Tabelle 3: Metabolitveränderungen kumulativ in den ersten 40 Perfusionsminuten (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

		n	Glucose (µmol/30g)	Lactat (µmol/30g)	Pyruvat (µmol/30g)	Alanin (µmol/30g)
I	(A) Standardperfusion	13	-96,85 ± 3,84	+55,03 ± 5,07	-2,88 ± 0,85	+16,57 ± 0,86
	(B) 3 mM Lactatzusatz	5	-89,26 ± 16,32	- 2,00 ± 5,07	+0,96 ± 2,03	+19,20 ± 1,45
	(C) 6 mM Lactatzusatz	6	-93,70 ± 10,45	-37,61 ± 5,79	+8,22 ± 2,32	+22,08 ± 1,58
II	(D) musk. Erschöpfung	5	-228,91 ± 18,28	+46,94 ± 9,89	- 0,12 ± 2,26	+10,23 ± 1,06
	(E) 6 mM Lactatzusatz musk. Erschöpfung	6	-233,33 ± 20,86	-25,04 ± 13,09	+11,30 ± 1,72	+13,32 ± 0,76
	(F) 6 mM Lactatzusatz musk. Erschöpfung nach Training	5	-183,64 ± 8,14	-43,01 ± 20,03	+ 9,80 ± 2,37	+ 14,36 ± 1,26

Tabelle 4: Metabolitveränderungen kumulativ über die gesamte Perfusion (60 min) (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

		n	Glucose (µmol/30g)	Lactat (µmol/30g)	Pyruvat (µmol/30g)	Alanin (µmol/30g)
I	(A) Standardperfusion	13	-137,71 ± 6,31	+79,73 ± 7,12	-5,35 ± 1,10	+22,05 ± 0,87
	(B) 3 mM Lactatzusatz	5	-138,49 ± 23,81	+ 3,27 ± 4,08	-1,88 ± 2,33	+24,13 ± 1,05
	(C) 6 mM Lactatzusatz	6	-160,28 ± 11,00	-36,67 ± 8,12	+4,53 ± 2,69	+26,5o ± 1,51
II	(D) musk. Erschöpfung	5	-338,33 ± 23,07	+48,12 ± 14,62	-0,70 ± 1,93	+13,05 ± 1,19
	(E) 6 mM Lactatzusatz musk. Erschöpfung	6	-345,18 ± 27,85	-52,80 ± 13,93	+9,52 ± 2,25	+14,o2 ± 1,49
	(F) 6 mM Lactatzusatz musk. Erschöpfung nach Training	5	-276,48 ± 12,69	-65,53 ± 26,52	+5,37 ± 2,68	+19,61 ± 1,13

Tabelle 5: Lactat/Pyruvat - Quotienten (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

			Perfusionsmedium				Muskelzell-wasser nach Perfusion
		n	0 min	20 min	40 min	60 min	
I	Standardperfusion (A)	13	9,3 ± 0,6	12,9 ± 0,8	15,7 ± 0,9	23,7 ± 2,2	17,6 ± 3,5
	3 mM Lactatzusatz (B)	5	10,3 ± 0,8	8,6 ± 0,6	10,0 ± 0,7	12,0 ± 1,2	9,0 ± 0,9
	6 mM Lactatzusatz (C)	6	15,3 ± 0,8	10,6 ± 0,3	11,0 ± 0,5	12,4 ± 0,7	12,7 ± 1,9
II	musk. Erschöpfung (D)	5	9,3 ± 0,7	10,6 ± 0,5	11,7 ± 0,6	12,1 ± 0,6	17,9 ± 2,1
	6 mM Lactatzusatz, musk. Erschöpfung (E)	6	17,6 ± 0,6	12,7 ± 0,6	12,5 ± 0,5	12,9 ± 0,8	13,2 ± 1,9
	6 mM Lactatzusatz, musk. Erschöpfung nach Training (F)	5	15,8 ± 1,8	10,6 ± 0,6	11,9 ± 0,9	12,0 ± 0,8	12,9 ± 1,9

Tabelle 6: Metabolite im Muskelzellwasser (Lac, Pyr) bzw. in der Muskeltrockensubstanz (Glykogen) nach Perfusion (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

		n (Lac,Pyr)	n (Glykogen)	Lactat (umol/ml)	Pyruvat (umol/ml)	Glykogen (mg/g)
I	Normaltiere ohne Perfusion	6	6	2,53 ± 0,22	0,098 ± 0,020	13,39 ± 0,49
	Standardperfusion (A)	3	13	2,44 ± 0,38	0,141 ± 0,010	15,41 ± 0,59
	3 mM Lactatzusatz (B)	4	5	2,77 ± 0,54	0,305 ± 0,038	17,23 ± 0,92
	6 mM Lactatzusatz (C)	5	6	3,89 ± 0,39	0,317 ± 0,029	17,39 ± 0,61
II	musk. Erschöpfung (D)	5	5	2,88 ± 0,10	0,172 ± 0,020	16,88 ± 0,62
	6 mM Lactatzusatz musk. Erschöpfung (E)	6	6	4,22 ± 0,20	0,345 ± 0,040	15,37 ± 0,60
	6 mM Lactatzusatz musk. Erschöpfung nach Training (F)	5	5	4,01 ± 0,53	0,315 ± 0,020	12,40 ± 1,41
	Normaltiere nach Erschöpfung ohne Perfusion	4	4	11,07 ± 1,98		3,00 ± 0,25

Tabelle 7: Metabolitkonzentrationen im Perfusat (Werte als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

		n	t min	Glucose µmol/ml	Lactat µmol/ml	Pyruvat µmol/ml	Alanin µmol/ml
I	(A) Standard-perfusion	13	0	10,07 ± 0,33	1,62 ± 0,10	0,179 ± 0,010	0,104 ± 0,010
			60	8,51 ± 0,35	2,53 ± 0,09	0,117 ± 0,010	0,353 ± 0,010
	(B) 3 mMol/l Lactatzusatz	5	0	10,54 ± 0,14	3,54 ± 0 12	0,353 ± 0,024	0,121 ± 0,009
			60	8,68 ± 0,18	3,60 ± 0,11	0,312 ± 0,028	0,453 ± 0,036
	(C) 6 mMol/l Lactatzusatz	6	0	10,28 ± 0,10	5,54 ± 0,08	0,367 ± 0,017	0,145 ± 0,018
			60	8,29 ± 0,10	5,10 ± 0,17	0,418 ± 0,023	0,472 ± 0,037
II	(D) muskuläre Erschöpfung	5	0	9,18 ± 0,23	2,27 ± 0,16	0,252 ± 0,018	0,091 ± 0,007
			60	5,16 ± 0,17	2,89 ± 0,14	0,241 ± 0,019	0,244 ± 0,020
	(E) 6 mMol/l Lactatzusatz, muskuläre Erschöpfung	6	0	9,25 ± 0,13	6,61 ± 0,19	0,378 ± 0,010	0,109 ± 0,012
			60	5,05 ± 0,25	5,95 ± 0,26	0,485 ± 0,027	0,282 ± 0,035
	(F) 6 mMol/l Lactatzusatz, musk. Erschöpfung nach Ausdauertraining	5	0	9,17 ± 0,11	6,48 ± 0,17	0,395 ± 0,030	0,132 ± 0,012
			60	5,11 ± 0,21	5,49 ± 0,42	0,456 ± 0,014	0,405 ± 0,036

Lebenslauf

Am 25.6.1951 wurde ich geboren in Wickrath als Sohn des Verwaltungsangestellten Heinrich Thomaßen und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Eßer.

Nach dem Besuch der Katholischen Volksschule meines Heimatortes von 1957 bis 1962 wechselte ich auf das Städtische Gymnasium Rheydt-Odenkirchen, wo ich im Juni 1970 die Reifeprüfung ablegte.

In der Zeit vom 1.9.1970 bis zum 29.2.1972 leistete ich zivilen Ersatzdienst im Pflegedienst eines Krankenhauses.

Im Sommersemester 1972 begann mein Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf, das ich mit der Ärztlichen Prüfung am 9.11.1978 erfolgreich abschloß. Die Approbation als Arzt wurde mir am 27.11.1978 erteilt.

Im ärztlichen Beruf war ich bisher vom 1.2.1979 an an der psychiatrischen Landesklinik Langenfeld, und vom 1.4.1980 an im Evangelischen Krankenhaus "Bethesda", Innere Abteilung, in Mönchengladbach tätig.